

ЗДОРОВЬЕ И ОКРУЖАЮЩАЯ СРЕДА

Сборник научных трудов



Выпуск 34

ISSN 2076-3778

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«РЕСПУБЛИКАНСКИЙ ЦЕНТР ГИГИЕНЫ, ЭПИДЕМИОЛОГИИ
И ОБЩЕСТВЕННОГО ЗДОРОВЬЯ»

ЗДОРОВЬЕ И ОКРУЖАЮЩАЯ СРЕДА

Сборник научных трудов

Выпуск 34

Гомель
Редакция газеты «Гомельская праўда»
2024

Рекомендовано
Научно-техническим советом государственного учреждения «Республиканский центр гигиены,
эпидемиологии и общественного здоровья»
(протокол № 3 от 17 декабря 2024 г.)

Главный редактор – кандидат медицинских наук, доцент С. И. Сычик;
заместитель главного редактора – доктор медицинских наук, профессор В. В. Шевляков;
ответственный редактор – кандидат медицинских наук С. Л. Итпаева-Людчик;
редактор – кандидат биологических наук Н. А. Ивко;
технические редакторы – Н. А. Ивко, Т. И. Вершило, Н. А. Долгина

Под общей редакцией главного врача РЦГЭиОЗ А. Л. Скуранович

Редакционная коллегия:

разделы 1–8: канд. мед. наук, доц. С. И. Сычик; д-р мед. наук, проф. В. В. Шевляков; канд. мед. наук С. Л. Итпаева-Людчик; канд. мед. наук Р. В. Богданов; канд. мед. наук А. М. Бондарук; канд. мед. наук В. М. Василькевич; канд. мед. наук В. А. Грынчак; д-р мед. наук, проф. Е. О. Гузик; канд. мед. наук, доц. Е. В. Дроздова; д-р биол. наук, проф. Н. В. Дудчик; канд. техн. наук, доц. О. М. Жукова; канд. мед. наук, доц. В. А. Зайцев; канд. мед. наук А. В. Зеленко; канд. биол. наук Н. А. Ивко; канд. мед. наук И. И. Ильюкова; канд. биол. наук А. А. Кузовкова; канд. мед. наук Е. В. Николаенко; канд. мед. наук С. Ю. Петрова; канд. хим. наук Е. И. Полянских; канд. мед. наук Т. Н. Пронина; канд. мед. наук Н. Н. Табелева; канд. мед. наук, доц. Е. В. Федоренко; д-р мед. наук, проф. В. А. Филонюк; канд. мед. наук Н. В. Цемборевич; канд. мед. наук, доц. В. Г. Цыганков;

разделы 9–11: д-р биол. наук, проф. З. М. Алещенкова; д-р мед. наук, проф. Т. В. Амвросьева; д-р мед. наук, доц. Е. И. Бореко; д-р биол. наук, доц. Е. С. Гасич; канд. мед. наук, доц. В. А. Горбунов; канд. мед. наук, доц. А. М. Дронина; д-р мед. наук В. Л. Колодкина; канд. мед. наук Е. С. Носова; д-р мед. наук, проф. Н. Н. Полещук; д-р мед. наук, проф. Е. О. Самойлович; д-р биол. наук, проф. Р. М. Смолякова; д-р биол. наук Е. Г. Фомина; канд. мед. наук Н. П. Шмелева; канд. биол. наук О. О. Янович

Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / редкол. : С. И. Сычик (гл. ред.) [и др.]. – Гомель : 3-46 Редакция газеты «Гомельская праўда», 2024. – 512 с.: ил.

Сборник научных трудов «Здоровье и окружающая среда» включает результаты научных исследований сотрудников научно-исследовательского института гигиены, токсикологии, эпидемиологии, вирусологии и микробиологии государственного учреждения «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», аспирантов, докторантов, профессорско-преподавательского состава научно-практических центров, учреждений образования, научных учреждений Республики Беларусь, Российской Федерации.

В сборнике освещены актуальные проблемы современной гигиены, токсикологии и профилактической медицины по гигиенической оценке воздействия факторов среды обитания различной природы на здоровье населения, применению методологии анализа рисков здоровью, гигиеническим аспектам здоровьесбережения учащихся, условиям труда и состоянию здоровья работающих, токсикологической оценке химических веществ и их смесей, фармацевтических субстанций, гигиене питания, радиационной безопасности; актуальные вопросы эпидемиологии, вирусологии и микробиологии, включающие особенности эпидемиологического слежения за отдельными инфекционными заболеваниями и использования геномных, протеомных и биоинформационных технологий в разработке методов и средств диагностики и медицинской профилактики инфекционных заболеваний бактериальной и вирусной этиологии, преодоления устойчивости к противомикробным и противовирусным препаратам.

Издание рассчитано на врачей-гигиенистов, врачей-токсикологов, врачей-профпатологов, врачей-эпидемиологов, врачей-лаборантов, руководителей (заместителей руководителя), врачей-специалистов медико-профилактического и медико-диагностического профилей организаций здравоохранения, научных работников и специалистов научных организаций медико-биологического профиля, профессорско-преподавательского состава, аспирантов, докторантов, врачей-интернов, клинических ординаторов, студентов учреждений образования медицинского и биологического профилей и других специалистов.

Входит в Перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования результатов диссертационных исследований по медицинским и биологическим наукам.

Сборник включен в базу данных Российского индекса научного цитирования (РИНЦ).

УДК 613/614(082)
ББК 51.2я43

Раздел 1

ЭКОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ГИГИЕНА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

УДК 628.1.033:614

Дроздова Е. В.

МЕТОДОЛОГИЯ ОЦЕНКИ РИСКА ЗДОРОВЬЮ ДЛЯ ОБОСНОВАНИЯ ВРЕМЕННЫХ ОТСТУПЛЕНИЙ ОТ ГИГИЕНИЧЕСКИХ НОРМАТИВОВ ПО ХИМИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ И РЕШЕНИЙ ПРИ ВОЗНИКНОВЕНИИ ЧРЕЗВЫЧАЙНЫХ СИТУАЦИЙ НА СИСТЕМАХ ПИТЬЕВОГО ВОДОСНАБЖЕНИЯ

*Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии
и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь*

Аннотация. Цель настоящей работы – научно обосновать методические подходы применения оценки рисков здоровью при согласовании временных отступлений от нормативов безопасности питьевой воды по химическим показателям и критерии оценки риска воздействия химических веществ, определяющих органолептические свойства питьевой воды, на здоровье населения при возникновении чрезвычайных (нештатных) ситуаций на системах централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения. В качестве исходных данных использованы результаты лабораторного контроля питьевой воды централизованных систем питьевого водоснабжения по органолептическим и санитарно-химическим показателям за 3-летний период, полученные в рамках надзорных мероприятий и производственного лабораторного контроля. Результаты проведенных исследований позволили обосновать перспективные направления имплементации в практику методологии оценки рисков здоровью, ассоциированных с воздействием веществ в воде, влияющих на органолептические свойства воды: 1) принятие оперативных решений при возникновении аварийных (чрезвычайных) ситуаций на централизованных системах питьевого водоснабжения, сопровождающихся поступлением в воду химических веществ, определяющих органолептические свойства питьевой воды; 2) формирование доказательной базы при согласовании временных отступлений от гигиенических нормативов для веществ, нормированных по влиянию на органолептические свойства воды, на период планирования и реализации мероприятий профильных государственных программ по водоснабжению и водоотведению (например, подпрограммы «Чистая вода» Государственной программы «Комфортное жилье и благоприятная среда»). Предложен инструментарий: алгоритм и критерии рассмотрения возможности временных отступлений с учетом приоритетов для республики. При этом эффективное применение отработанных подходов требует внедрения современных высокоточных и высокоселективных методов определения всех приоритетных загрязнителей.

Ключевые слова: питьевая вода, оценка риска здоровью, временные отступления от гигиенических нормативов, органолептические показатели, чрезвычайная ситуация, централизованная система хозяйственно-питьевого водоснабжения.

Введение. Вне зависимости от области применения (питье, приготовление еды, хозяйственно-бытовые нужды, гигиенические или рекреационные цели) вода вносит существенный вклад в формирование санитарно-эпидемиологического благополучия населения на административной территории, поскольку ее потенциальное загрязнение определяет риски развития инфекционных и неинфекционных заболеваний (в том числе массовых) на глобальном, региональном и страновом уровне^{1,2} [1–3]. Подача населению безопасной и качественной питьевой воды в достаточном количестве является

¹ Guidelines for drinking-water quality: fourth edition incorporating the first and second addenda / World Health Organization. – 4th ed. with adds. – Geneva, 2022. – 614 p.

² Глобальная стратегия ВОЗ в области здоровья, окружающей среды и изменения климата: преобразования, необходимые для устойчивого повышения качества жизни и благополучия путем оздоровления окружающей среды [Электронный ресурс] : одобр. резолюцией WHA72(9) Всемирной ассамблеи здравоохранения, 28 мая 2019 г. // Всемирная организация здравоохранения. – Режим доступа : https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA72-REC1/A72_REC1-ru.pdf. – Дата доступа : 22.09.2024.

одним из важнейших приоритетов в социальной сфере Республики Беларусь и индикаторов благополучия населения. Национальное законодательство в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения предполагает высокий уровень защиты граждан от негативного воздействия факторов среды обитания – используется системный (комплексный) подход. Так, гигиенические нормативы воды по химическим показателям учитывают не только безопасность для здоровья человека по санитарно-токсикологическим параметрам вредности, но и благоприятность органолептических свойств воды. При этом отсутствует разделение значимости показателей по безопасности и качеству, эффективности очистки, технической достижимости методов очистки. В республике установлен рациональный, научно обоснованный перечень контролируемых на регулярной основе показателей безопасности воды, учитывающий не только особенности формирования водоносных горизонтов и водосборных территорий, антропогенной нагрузки, но и организации систем питьевого водоснабжения. В 2021 и 2022 годах нормативы безопасности питьевой воды и перечень контролируемых показателей были актуализированы по результатам реализации НИР с учетом наилучшего международного опыта и практики их применения в стране, введена возможность корректировки программ производственного контроля на основе оценки рисков здоровью³ [4]. Впервые акцентировано внимание на не просто соблюдение гигиенического норматива, а необходимости поддержания минимально возможного содержания побочных продуктов дезинфекции с учетом достижения безопасности воды в эпидемическом отношении, учитывая множественность путей поступления летучих органических соединений [5, 6].

Оценка рисков здоровью как более гибкий подход широко имплементируется в национальное законодательство в области управления санитарно-эпидемиологическим благополучием населения. Оценка рисков здоровью населения, ассоциированных с потенциальным химическим загрязнением питьевой воды, в Беларуси применяется уже почти 20 лет. С целью обоснования приоритетных профилактических мероприятий по улучшению хозяйственно-питьевого водоснабжения, объектов водохозяйственной инфраструктуры для реконструкции и привлечения финансирования оценка рисков здоровью проводится органами и учреждениями, осуществляющими государственный санитарный надзор (далее – учреждения госсаннадзора). В последние годы ее методические подходы усовершенствованы – отработан алгоритм оценки рисков здоровью при многосредовом поступлении химических веществ из питьевой воды с учетом питьевого и хозяйственно-бытового водопользования, научно обоснованы методические подходы к гигиеническому нормированию веществ в воде^{4,5} и интегральной оценке питьевой воды по химическому составу по критериям риска здоровью с учетом особенностей условий водопользования в Республике Беларусь [7–12], к моделированию условий агрегированной экспозиции химических веществ биологического происхождения при различных видах водопользования (на примере цианотоксинов) [13]. Разработан и апробирован метод количественной оценки микробиологических рисков, ассоциированных с водопользованием, с применением батарей альтернативных тестов для оценки интегральной токсичности водных сред [14, 15].

В то же время ряд не менее актуальных и практически очень значимых аспектов применения методологии оценки рисков не имели формализованного унифицированного подхода, а актуальность их методического развития определена задачей 1.3. Комплекса мер по реализации обязательств, принятых Республикой Беларусь по «Протоколу по проблемам воды и здоровья до 2030 года», утвержденного 17–18.03.2021 Министерством здравоохранения, Министерством природных ресурсов и охраны окружающей среды и Министерством жилищно-коммунального хозяйства «Повышение устойчивости и надежности системы мониторинга безопасности питьевой воды в современных условиях» [16].

Статьей 22 Закона Республики Беларусь «О питьевом водоснабжении»⁶ определена необходимость проведения оценки риска для жизни и здоровья населения как основания «...для прекращения

³ Об утверждении гигиенических нормативов [Электронный ресурс] : постановление Совета Министров Респ. Беларусь 25.01.2021 № 37. – Режим доступа : <https://pravo.by/document/?guid=12551&p0=C22100037>. – Дата доступа : 14.09.2023.

⁴ Метод оценки риска для здоровья населения, обусловленного воздействием химических веществ, загрязняющих питьевую воду : инструкция по применению : утв. Гл. гос. санитар. врачом Респ. Беларусь 28.01.2022, рег. № 019-1221 / Е. В. Дроздова [и др.]. – Минск, [б. и.], 2022. – 14 с.

⁵ Метод гигиенического нормирования химических веществ в питьевой воде по критериям риска здоровью : инструкция по применению : утв. Гл. гос. санитар. врачом Респ. Беларусь 11.05.2022, рег. № 021-1221 / Е. В. Дроздова [и др.]. – Минск, [б. и.], 2022. – 14 с.

⁶ О питьевом водоснабжении [Электронный ресурс] : Закон Республики Беларусь, 24 июня 1999 г., № 271-3 : в ред. Законов Республики Беларусь от 09.01.2019 № 166-3, от 05.01.2022 № 148-3 // Консультант-Плюс. Беларусь / ООО «ЮрСпектр», Нац. центр правовой информ. Респ. Беларусь. – Минск, 2024.

или ограничения подачи питьевой воды населению в случае чрезвычайных ситуаций, повлекших загрязнение, засорение источников питьевого водоснабжения, а также в случаях нарушения функционирования системы питьевого водоснабжения, повлекших несоответствие питьевой воды нормативам безопасности...». Учреждениями госсаннадзора административной территории осуществляется оценка риска для жизни и здоровья населения, связанного не только с дальнейшим потреблением не соответствующей нормативным требованиям воды, но и с прекращением или ограничением ее использования в питьевых и бытовых целях. На основании результатов оценки риска готовится представление для принятия решения местного исполнительного и распорядительного органа базового территориального уровня о прекращении или ограничении подачи питьевой воды населению и подготовки рекомендаций по дальнейшему ее использованию. Для реализации данной нормы законодательства требовалось научно обосновать единые подходы к оценке риска здоровью населения при чрезвычайных ситуациях от воздействия химических веществ, содержащихся в питьевой воде, а также критерии оценки, позволяющие уполномоченным органам принимать оперативные решения на доказательной основе.

Еще один аспект, требующий научного обоснования – разработка методических подходов для согласования возможности временных отклонений от гигиенических нормативов качества питьевой воды по показателям химического состава, влияющим на органолептические свойства [17]. В ситуациях, когда обеспечение населения питьевой водой не может быть достигнуто иным способом, нормативными правовыми актами допускается по согласованию с учреждениями госсаннадзора установление «временных отклонений» по показателям химического состава, влияющим на органолептические свойства, при отсутствии риска для здоровья населения на период действия отступлений. Временные отклонения устанавливаются на ограниченный период времени – на время реализации плана мероприятий, разрабатываемого параллельно для обеспечения доведения показателей безопасности воды до нормативных (должен быть разработан календарный план работ, обозначены сроки выполнения, определены объемы и источники финансирования). Наличие доказательной базы принятия решений чрезвычайно актуально при планировании государственных программ (подпрограмм) по водоснабжению и водоотведению «Чистая вода» (с 2015 г. – подпрограмма государственной программы «Комфортное жилье»), содержащих мероприятия по улучшению инфраструктуры в секторе водоснабжения и водоотведения.

Таким образом, обозначенные специфические проблемно-тематические аспекты применения оценки рисков здоровью при осуществлении государственного санитарного надзора за безопасностью различных видов водопользования, требующие дополнительной научной проработки, создания доказательной базы на основе применения современных подходов и определили актуальность и целесообразность проведения исследований, результаты которых представлены в настоящей статье.

Цель работы – научно обосновать методические подходы применения оценки рисков здоровью при согласовании временных отступлений от нормативов безопасности питьевой воды по химическим показателям и критерии оценки риска воздействия химических веществ, определяющие органолептические свойства питьевой воды, на здоровье населения при возникновении чрезвычайных (нештатных) ситуаций на системах централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения.

Материалы и методы. Работа выполнялась в рамках заданий 01.01. «Разработать метод гигиенической оценки летучих химических веществ в питьевой воде» подпрограммы «Безопасность среды обитания человека» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», 2021–2025 годы (рег. № НИОКР 20190177), и «Разработать и научно обосновать метод оценки риска здоровью населения от воздействия химических веществ, определяющих органолептические свойства питьевой воды при возникновении чрезвычайных ситуаций на системах централизованного питьевого водоснабжения» Плана научных исследований и разработок общегосударственного отраслевого назначения, направленных на научно-техническое обеспечение деятельности Министерства здравоохранения Республики Беларусь на 2021 год (рег. № НИОКР 20212485).

В качестве исходных данных использованы результаты лабораторного контроля питьевой воды централизованных систем питьевого водоснабжения (при выходе воды в разводящую сеть водопровода) по органолептическим и санитарно-химическим показателям за 3 года, полученные территориальными учреждениями госсаннадзора в рамках надзорных мероприятий и водохозяйственными организациями в рамках производственного лабораторного контроля.

При разработке критериев согласования временных отступлений от гигиенических нормативов выполнена оценка риска здоровью населения (далее – ОР) от употребления питьевой воды

на 3 характерных для республики примерах водопроводов: модель 1.1 (ВЗ 1) с подземным водозабором, для которого характерен многолетний тренд на постепенное повышение содержания в воде источника нитратов [18]; модель 1.2 (ВЗ 2) с подземным водозабором, характеризующийся повышенными концентрациями железа и марганца в воде [4, 19]; модель 1.3 (ВЗ 3) с водозабором из поверхностного источника с применением реагентных методов обеззараживания воды (хлорирование) [5].

В модель ОР⁴ включали 3 пути поступления химических веществ: пероральный, а также ингаляционный и накожный для летучих веществ. При оценке канцерогенного и неканцерогенного риска использовали среднесуточные дозы поступления веществ в организм по 3 возрастным группам населения (дети 6 лет, дети 6–18 лет, взрослые). Они рассчитывались на основании значений 95 % верхней доверительной границы среднесуточных концентраций для хронической экспозиции (70 лет) и значений максимальных (Max) и P95 концентраций веществ в воде на период предполагаемых временных отступлений. При обосновании дизайна исследований в части оценки экспозиции в качестве величин максимальной длительности предполагаемых временных отступлений химических показателей от гигиенических нормативов предложен период 7 лет, исходя из общих программных принципов планирования в республике: 5 лет – стандартный срок реализации государственных и региональных программ, в том числе программ (подпрограмм), направленных на улучшения в секторе водоснабжения и водоотведения («Чистая вода»), 7 лет – длительность с учетом этапа планирования. Канцерогенная опасность изучена на основе индивидуального канцерогенного риска – рассчитан канцерогенный риск для каждого пути поступления химических веществ и общий канцерогенный риск для всех путей. Оценка неканцерогенного риска выполнена с учетом референтных уровней воздействия. Характеристика общетоксических эффектов дана на основе коэффициентов опасности (далее – HQ) отдельных веществ и индексов опасности (далее – HI) для веществ с однонаправленным механизмом действия. Проведен расчет интегрального показателя безопасности питьевой воды по химическому составу (далее – IC) по критериям риска⁷.

При отработке критериев оценки риска воздействия химических веществ, определяющих органолептические свойства питьевой воды, на здоровье населения при чрезвычайных (нештатных) ситуациях (далее – ЧС) на системах централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения (далее – ЦХПВ) проведен анализ соответствующих зарубежных и международных методических подходов (Всемирная организация здравоохранения, Российская Федерация, Европейский союз, страны дальнего зарубежья) [20, 21], что позволило обосновать перечень указанных критериев с учетом особенностей водохозяйственного сектора Республики Беларусь (используемые источники водоснабжения, применяемые методы водоподготовки, данные многолетнего мониторинга качества воды с учетом регионов). Разработан метод экспресс-оценки риска здоровью населения, ассоциированного с воздействием химических веществ, влияющих на органолептические свойства питьевой воды (алгоритм и критериальный аппарат для оценки). Проведена апробация метода по 3 моделям ЧС на системах ЦХПВ, отмеченных в ретроспективе и наиболее реалистичных для условий республики:

модель 2.1: повреждение/нарушение эксплуатации сооружений водоподготовки, частичное прекращение подачи воды потребителям. Пример на водопроводах с подземными водоисточниками, результаты лабораторных исследований питьевой воды: концентрация железа – 1,75 мг/дм³, марганца – 0,9 мг/дм³, запах – 2 балла, привкус – 3 балла, мутность – 6 ЕМФ, цветность – 46 градусов;

модель 2.2: поступление в водопроводную сеть побочных продуктов водоподготовки, например, при хлорировании (актуально при суперхлорировании, двойном хлорировании в период цветения поверхностных водных объектов – источников водоснабжения, а также при ненадлежащей промывке водопровода после дезинфекции, вспышечной инфекционной заболеваемости). Результаты лабораторных исследований: концентрация хлороформа – 0,45 мг/дм³, запах – 3 балла, привкус – 4 балла, мутность – 4 ЕМФ;

модель 2.3: повреждение промышленных установок, например, сопровождающееся утечкой химических веществ (например, нефтепродуктов) и их поступлением в воду источника. Результаты лабораторных исследований питьевой воды: концентрация нефтепродуктов (суммарно) – 0,39 мг/дм³, запах – 4 балла, привкус – 5 балла, мутность – 4,7 ЕМФ, цветность – 42 градуса.

Результаты исследования подвергались статистической обработке общепринятыми методами параметрической и непараметрической статистики с использованием лицензионного программного

⁷ Метод интегральной оценки рисков здоровью, ассоциированных с водопользованием : инструкция по применению : утв. Гл. гос. санитар. врачом Респ. Беларусь 10.06.2022, рег. № 031-1221 / Е. В. Дроздова [и др.]. – Минск, [б. и.], 2022. – 23 с.

обеспечения Microsoft Excel 11 (Microsoft, США) и Statistica 10 (StatSoft, США). Различия между сравниваемыми показателями расценивали как достоверные при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. *Результаты исследования по направлению 1:* научно обосновать методические подходы применения оценки рисков здоровью при согласовании временных отступлений от нормативов безопасности питьевой воды по химическим показателям, нормированным по органолептическим свойствам.

Проведена гигиеническая оценка результатов рутинных (плановых) лабораторных исследований питьевой воды на выходе со станций водоочистки и водоподготовки за 3 последовательных года (модели 1.1, 1.2 и 1.3). Количество и перечень контролируемых показателей определялись видом источника, характеристиками водоносных горизонтов и водосборной территории, применяемыми методами водоподготовки – изучалось содержание в воде компонентов природного происхождения (неорганических) и потенциального антропогенного загрязнения (средства защиты растений, побочные продукты водоподготовки). Всего на ВЗ 1 и ВЗ 2 исследовались 39 показателей, в том числе 4 органолептических, 7 обобщенных, 3 вещества 4 класса опасности (аммиак, хлориды, сульфаты), 6–3 класса (железо, нитраты, медь, хром (6+), молибден, марганец), 14–2 класса (цианиды, фториды, бор, барий, стронций, цинк, свинец, алюминий, кадмий, никель, селен, нитриты, ДДТ, 2,4-Д) и 4–1 класса (ртуть, бериллий, мышьяк, линдан). В воде с поверхностным водозабором (ВЗ 3) – 24 показателя, приоритетных для данного вида водоемисточников и используемых способов водоподготовки (хлорирование). Проведенный анализ использованных методов исследований показал их достаточную чувствительность для гигиенической оценки и последующей оценки рисков здоровью, за исключением мышьяка (нижний предел количественного определения метода измерений (далее – НПКО) $> 0,5$ ПДК). При этом НПКО методов для большинства веществ 2 и 3 классов опасности был $\leq 0,1$ ПДК, для веществ 1 класса опасности от 0,1 до 0,5 ПДК, что объяснимо очень низкими количественными значениями ПДК (микрограммы, десятые и сотые микрограмма). Из канцерогенов НПКО методов находилось в пределах $\leq 0,01$ ПДК для бромдихлорметана (1 класс), хлороформа и бромформа (2 класс), $> 0,01 - \leq 0,1$ ПДК для трихлорэтилена, тетрахлорэтилена, дибромхлорметана, свинца и 2,4-Д (2 класс); $> 0,01-0,5$ ПДК для 1,2-дихлорэтана и Cr (6+) (2 и 3 классы), $> 0,1-0,5$ ПДК для бериллия, линдана (1 класс), ДДТ (2 класс), $> 0,5$ ПДК для мышьяка (1 класс).

В целом результаты исследований по органолептическим и обобщенным показателям коррелировали с результатами исследований по химическим показателям безопасности. Установлено, что ни в одной пробе воды из подземных источников на водозаборах ВЗ 1 и ВЗ 2 (модели 1.1 и 1.2) не выявлены АПАВ, нитриты, Se, Be, Cr (6+), As, Hg, пестициды, а на ВЗ 2 – также цианиды. На ВЗ 1 превышения ПДК выявлены по содержанию 6 веществ: Fe до 6,3 ПДК (23,8 % проб), Mn до 2,1 ПДК (24,7 %), нитраты до 2,5 ПДК (15,2 %), Cd до 3 ПДК (0,9 %), а также В до 1,5 ПДК (3,0 %) и Ва до 1,2 ПДК (0,9 %); на ВЗ 2 – по содержанию 4 веществ: Fe до 5,9 ПДК (50,0 %), Mn до 2,8 ПДК (14,7 %), В до 2,2 ПДК (7,9 %), фтор до 1,9 ПДК (4,4 %).

В воде из поверхностных источников (модель 1.3 – ВЗ 3), прошедшей полный цикл водоподготовки, из исследованных 24 потенциальных контаминантов в пределах чувствительности метода в отдельных пробах определялись лишь кадмий (39,4 %), молибден (21,2 %), нитриты (16,0 %), свинец (15,2 %), барий (3,0 %), в 100 % проб обнаруживались фториды и в 96,3 % алюминий (остаточные концентрации вследствие водоподготовки), а также в 100 % побочные продукты дезинфекции – хлороформ, бромдихлорметан (содержание варьировало в зависимости от периода года). В 12,6 % проб имело место превышение ПДК по остаточному алюминию до 1,6 раза (от 0,001 до 2,1 мг/дм³, средняя концентрация 0,23 мг/л при ПДК 0,5 мг/л). Из исследованных соединений с канцерогенным потенциалом определялись свинец в 10,9/15,8/15,2 % проб в концентрациях до 0,3/0,4/0,4 ПДК, соответственно для ВЗ 1 / ВЗ 2 / ВЗ 3, а также на ВЗ 3 в 100 % проб 2 соединения из побочных продуктов дезинфекции – хлороформ до 0,9 ПДК и бромдихлорметан – до 0,6 ПДК.

Для повышения точности и надежности планируемой ОР была проанализирована доступная актуальная информация о токсичности и опасности химических веществ, наличии референтных доз (далее – RfD) и факторов канцерогенного потенциала с учетом релевантных путей поступления веществ в организм (источники информации: IRIS, Health Canada, МАИР, ВОЗ) [22, 23]. По результатам из дальнейшей оценки риска исключены соединения, не имеющие RfD (хлориды, сульфаты), обобщенные и органолептические показатели, учтены современные данные о токсичности и канцерогенном потенциале для хрома (6+), марганца, бора, бария, мышьяка. В ОР были включены соединения, обнаруживающиеся в пробах воды на каждом из изучаемых объектов хотя бы 1 раз за 3 года при

условии достаточной чувствительности метода, а также вещества с недостаточной для ОР чувствительностью метода вне зависимости от обнаружений (мышьяк). Доля проб воды с обнаруженными веществами на водозаборах соответственно ВЗ 1 / ВЗ 2, включенными в оценку риска здоровью: **нитраты 76,1/11,8 %**, Mn 68,0/**97,1 %**, Zn 66,0/67,6 %, Cu 57,7/61,8 %, Al 54,6/88,2 %, фториды 48,4/100,0 %, Fe 41,6/**84,2 %**, Cd 32,7/42,1 %, Ba 32,2/**84,2 %**, Mo 22,8/44,7 %, Pb 10,9/15,8 %, Ni 5,9/26,3 %, B 5/21,1 %, цианиды 4,0 %, Sr 1,7/5,3 %, аммиак 2,1/5,3 %. Для оценки риска на ВЗ 3 включены 1 вещество 3 класса опасности (Mo), 2 вещества 1 класса опасности (As, бромдихлорметан) и 7 веществ 2 класса опасности (фториды, Ba, Pb, Al, Cd, нитриты, хлороформ).

Для расчетов экспозиции замещение незначущих значений концентраций (далее – НЗК) проводили согласно обоснованному авторами ранее рациональному алгоритму, учитывающему сложившиеся в республике условия водопользования и лабораторно-методическую базу: при достаточной для ОР чувствительности метода определения вещества НЗК замещали на 0,5 НПКО при выявлении соединения в ≥ 5 % проб и 0 при выявлении в < 5 % проб; при недостаточной чувствительности метода определения вещества в воде для оценки рисков (НПКО $> 0,5$ ПДК) и 0 % проб с детекцией, но при потенциальной возможности вещества присутствовать в воде в сложившихся условиях водопользования – вместо НЗК при расчете экспозиции использовали значение 0,1 НПКО (статья «Моделирование экспозиции при поступлении химических веществ с водой с учетом замещения незначимых значений концентраций» будет опубликована в № 4 за 2024 г. журнала «Проблемы здоровья и экологии»).

Коэффициенты опасности (HQ) для всех приоритетных, включенных для ОР химических веществ, и их ранжирование представлены в таблице 1. Полученные значения HQ коррелируют с критерием выбора моделей по приоритетности загрязнителей для республики. Для водопроводов с подземным водозабором превышение допустимого уровня неканцерогенного риска по показателю HQ (> 1) для хронической и среднесрочной экспозиции (7 лет) отмечается для железа (модель 1.1) и для железа и марганца (модель 1.2). Для модели 1.3 (с поверхностным источником) при расчете только с учетом перорального пути поступления значения коэффициента опасности HQ находились в пределах допустимого уровня для всех исследованных показателей. Вклад ингаляционного пути в поступление хлороформа в организм взрослого населения составляет 86 % [5, 24].

Значения суммарных индексов опасности, рассчитанных для хронической и среднесрочной экспозиции для химических веществ, влияющих на один орган (систему) (таблица 2), для водопроводов из подземных источников превышали допустимый уровень (> 1) для системы крови, кожи, слизистых, иммунной системы, а для модели 1.2 также для центральной нервной системы в течение всей жизни (за счет марганца). Наиболее уязвима система крови, преимущественно за счет экспозиции железом, марганцем, а для ВЗ 2 – и нитратов (вклад более 20 %). С учетом специфики загрязнителей следует отметить: для модели 1.1 также уязвимыми на уровне, близком к верхней границе допустимого по значению HI являются центральная нервная система (78,1 % за счет воздействия марганца), сердечно-сосудистая система (75 % за счет нитратов и 12,7 % бария) и выделительная система (около 70 % за счет кадмия, и 25 % – бария), а для модели 1.2 – желудочно-кишечный тракт и репродуктивная система ($> 76,7$ % за счет бора). Для модели 1.3 (с поверхностным водозабором) значения суммарных индексов опасности при пероральном поступлении превышали допустимый уровень для центральной нервной системы при хронической (49,8 % за счет Al, 38,6 % за счет хлороформа) и среднесрочной экспозициях (> 75 % за счет Al), а также для выделительной системы при долгосрочном воздействии (HI = 1,1, за счет алюминия). При этом на уровне, близком к верхней границе допустимого по значению HI являются желудочно-кишечный тракт (100 % за счет воздействия алюминия) при разной экспозиции, а также печень при хроническом воздействии (за счет побочных продуктов дезинфекции).

Значения индивидуального канцерогенного риска для отдельных веществ, вошедших в оценку риска, и суммарного канцерогенного риска и популяционного канцерогенного риска при пероральном поступлении, а также результаты ранжирования по вкладу канцерогенов представлены в таблице 3.

Таблица 1 – Неканцерогенный риск: значение коэффициентов опасности для отдельных веществ

Показатель	Модель 1.1 (B3 1)						Модель 1.2 (B3 2)						Модель 1.3 (B3 3)					
	Хроническое воздействие			На период временных отступлений			Хроническое воздействие			На период временных отступлений			Хроническое воздействие			На период временных отступлений		
	По средним	Ранг	HQ	По МАХ	Ранг	HQ	По средним	Ранг	HQ	По МАХ	Ранг	HQ	По средним	Ранг	HQ	По МАХ	Ранг	HQ
Железо (Fe) (сумм.)	1,202	1	1,478	1	0,848	1	3,184	1	1,377	1	1,377	1	1,377	1	-	-	-	-
Нитраты (NO ₃ ⁻)	0,586	3	0,579	3	0,367	3	0,008	14	0,007	14	0,007	14	0,007	14	-	-	-	-
Цианиды (CN ⁻)	0,010	14	0,047	11	0,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Фториды (F ⁻)	0,096	6	0,118	7	0,039	6	0,561	4	0,436	4	0,412	4	0,412	4	0,101	5	0,030	6
Бор В (сумм.)	0,084	7	0,345	5	0,000	-	0,596	3	0,516	3	0,505	3	0,505	3	-	-	-	-
Барий (Ba)	0,097	5	0,277	6	0,033	7	0,131	7	0,073	8	0,063	8	0,063	8	0,004	9	0,020	8
Стронций (Sr)	0,004	15	0,028	13	0,000	-	0,041	13	0,019	12	0,018	12	0,018	12	-	-	-	-
Цинк (Zn)	0,002	17	0,003	17	0,001	13	0,002	16	0,002	16	0,001	16	0,001	16	-	-	-	-
Медь (Cu)	0,003	16	0,005	16	0,002	12	0,003	15	0,003	15	0,002	15	0,002	15	-	-	-	-
Свинец (Pb)	0,069	8	0,070	10	0,023	8	0,104	8	0,093	6	0,070	7	0,070	7	0,092	6	0,093	5
Алюминий (Al)	0,065	9	0,074	9	0,040	5	0,102	9	0,049	11	0,046	11	0,046	11	0,720	1	0,980	1
Кадмий (Cd)	0,263	4	0,700	2	0,163	4	0,229	5	0,210	5	0,163	5	0,163	5	0,144	4	0,093	4
Никель (Ni)	0,036	11	0,047	12	0,012	10	0,076	10	0,058	9	0,047	10	0,047	10	-	-	-	-
Молибден (Mo)	0,021	12	0,020	14	0,017	9	0,053	11	0,057	10	0,047	9	0,047	9	0,015	8	0,013	9
Марганец (Mn)	0,707	2	0,495	4	0,385	2	1,153	2	0,660	2	0,616	2	0,616	2	-	-	-	-
Мышьяк (As)	0,050	10	0,012	15	0,012	10	0,050	12	0,012	13	0,012	13	0,012	13	0,077	7	0,023	7
Аммиак (NH ₄ ⁺)	0,017	13	0,096	8	0,000	-	0,159	6	0,093	6	0,073	6	0,073	6	-	-	-	-
Нитриты	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,001	10	0,001	10
Хлороформ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,56	2	0,20	2
Бромдихлорметан	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,34	3	0,14	3

Примечания:

- 1) полужирным курсивом выделены вещества, обладающие канцерогенным потенциалом;
- 2) полужирным шрифтом выделены значения HQ в диапазоне риска «средний»; курсивом – «низкий».

Таблица 2 – Неканцерогенный риск: значение индексов опасности с учетом критических органов и систем

Критические органы и системы	Модель 1.1 (В3 1)						Модель 1.2 (В3 2)						Модель 1.3 (В3 3)											
	Хроническое воздействие		На период временных отступлений		Число* веществ	Хроническое воздействие	На период временных отступлений		Число* веществ	Хроническое воздействие	На период временных отступлений		Число* веществ	Хроническое воздействие		На период временных отступлений								
	По средним	Ранг	По МАХ	По P95			По средним	Ранг			По МАХ	По P95		По средним	Ранг	По МАХ	По P95							
	HQ	Ранг	HQ	Ранг	HQ	Ранг	HQ	Ранг	HQ	Ранг	HQ	Ранг	HQ	Ранг	HQ	Ранг								
ЦНС	5	0,90	6	0,70	8	0,46	6	0,46	4	1,41	6	0,81	6	0,74	6	0,97	1	1,45	1	1,30	1	0,97	1	
ПНС	3	0,13	10	0,13	11	0,04	10	0,04	2	0,15	12	0,11	11	0,08	11	0,08	11	2	0,17	8	0,12	8	0,09	9
ЖКТ	4	0,19	9	0,47	9	0,05	9	0,05	4	0,78	7	0,63	7	0,60	7	0,60	7	1	0,72	4	0,98	2	0,69	2
ССС	4	0,77	7	0,91	7	0,42	7	0,42	4	0,26	10	0,15	10	0,13	10	0,13	10	2	0,08	11	0,04	11	0,69	2
Почки	3	0,38	8	1,00	6	0,21	8	0,21	3	0,41	9	0,34	9	0,27	9	0,27	9	5	1,06	2	0,47	3	0,40	4
Печень	2	0,04	13	0,05	14	0,01	12	0,01	2	0,08	14	0,06	14	0,05	14	0,05	14	2	0,89	3	0,34	4	0,30	5
Репродуктивная система	1	0,08	11	0,35	10	0,00		0,00	1	0,60	8	0,52	8	0,51	8	0,51	8	1	0,56	5	0,20	5	0,19	6
Развитие	0	-	-	-	-	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,56	5	0,20	5	0,19	6
Слизистые	1	1,20	3	1,48	3	0,85	3	0,85	1	3,18	3	1,38	3	1,38	3	1,38	3	0	-	-	-	-	-	-
Кожа	2	1,25	2	1,49	2	0,86	2	0,86	2	3,23	2	1,39	2	1,39	2	1,39	2	1	0,08	12	0,02	12	0,02	12
Кровь	6	2,60	1	2,67	1	1,64	1	1,64	6	4,53	1	2,20	1	2,12	1	2,12	1	2	0,09	9	0,09	9	0,07	10
Иммунная система	1	1,20	3	1,48	3	0,85	3	0,85	1	3,18	3	1,38	3	1,38	3	1,38	3	0	-	-	-	-	-	-
Биохимия крови	2	0,07	12	0,07	13	0,02	11	0,02	2	0,11	13	0,10	12	0,07	13	0,07	13	1	0,09	10	0,09	10	0,07	11
Эндокринная система	1	0,01	15	0,05	15	-	-	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0,56	5	0,20	5	0,19	6
Запах	1	0,02	14	0,10	12	-	-	-	1	0,16	11	0,09	13	0,07	12	0,07	12	0	-	-	-	-	-	-
Кости	1	0,00	16	0,03	16	-	-	-	1	0,04	15	0,02	15	0,02	15	0,02	15	0	-	-	-	-	-	-

* число веществ с однонаправленным действием.

Примечание – полужирным шрифтом выделены значения HI в диапазоне риска «средний», курсивом – «низкий».

Таблица 3 – Канцерогенный риск

Показатель	Хроническое воздействие (на 70 лет) по средним				На период временных отступлений (7 лет) по Max					
	Взрослые	Дети 6-18 лет	Дети до 6 лет	Доля (%)	Ранг	Взрослые	Дети 6-18 лет	Дети до 6 лет	Доля (%)	Ранг
Модель 1.1 (В3 1) – подземный источник (расчеты только для перорального пути поступления)										
Свинец (Pb)	1,66E-07	3,55E-08	2,22E-08	0,78	2	7,19E-08	8,98E-08	1,12E-07	3,29	2
Мышьак (As)	2,11E-05	4,53E-06	2,83E-06	99,22	1	2,11E-06	2,64E-06	3,30E-06	97,71	1
Суммарный канцерогенный риск (CR)	2,13E-05	4,56E-06	2,85E-06	100,00	–	2,19E-06	2,73E-06	3,42E-06	100,00	–
Популяционный канцерогенный риск	2,22E+00	6,52E-02	2,29E-02	–	–	2,28E-01	3,90E-02	2,74E-02	–	–
Популяционный канцерогенный риск без As	1,73E-02	5,07E-04	1,78E-04	–	–	7,49E-03	1,28E-03	9,03E-04	–	–
Модель 1.2 (В3 2) – подземный источник (расчеты только для перорального пути поступления)										
Свинец (Pb)	2,50E-07	5,36E-08	3,35E-08	1,17	2	9,58E-08	1,20E-07	1,50E-07	4,34	2
Мышьак (As)	2,11E-05	4,53E-06	2,83E-06	98,83	1	2,11E-06	2,64E-06	3,30E-06	95,66	1
Суммарный канцерогенный риск (CR)	2,14E-05	4,58E-06	2,87E-06	100,00	–	2,21E-06	2,76E-06	3,45E-06	100,00	–
Популяционный канцерогенный риск	2,23E+00	6,54E-02	2,30E-02	–	–	2,30E-01	3,94E-02	2,77E-02	–	–
Популяционный канцерогенный риск без As	2,61E-02	7,65E-04	2,69E-04	–	–	9,98E-03	1,71E-03	1,20E-03	–	–
Модель 1.3 (В3 3) – поверхностный источник										
расчеты канцерогенного риска только для перорального пути поступления (CR_{wo})										
Свинец (Pb)	2,20E-07	4,70E-08	2,94E-08	0,32	4	9,58E-08	1,20E-07	1,50E-07	0,91	4
Мышьак (As)	3,27E-05	7,00E-06	4,38E-06	46,91	1	4,23E-06	5,28E-06	6,61E-06	40,35	1
Хлороформ	1,92E-05	4,11E-06	2,57E-06	27,53	2	3,01E-06	3,76E-06	4,70E-06	28,72	3
Бромдихлорметан	1,76E-05	3,77E-06	2,36E-06	25,24	3	3,14E-06	3,93E-06	4,92E-06	30,02	2
Суммарный канцерогенный риск (CR _{wo})	6,97E-05	1,49E-05	9,34E-06	100,00	–	1,05E-05	1,31E-05	1,64E-05	100,00	–
Суммарный канцерогенный риск (CR _{wo}) без As	3,70E-05	7,93E-06	4,96E-06	–	–	6,25E-06	7,81E-06	9,77E-06	–	–
расчеты канцерогенного риска для множественных путей поступления (CR_w)										
Хлороформ	1,76E-03	1,75E-03	1,74E-03	26,60	2	2,76E-04	2,77E-04	2,81E-04	24,21	2
Бромдихлорметан	4,83E-03	4,81E-03	4,81E-03	72,91	1	8,61E-04	8,62E-04	8,65E-04	75,41	1
Суммарный канцерогенный риск (CR _w) – 4 вещества	6,62E-03	1,81E-03	1,83E-03	100,00	–	1,14E-03	1,14E-03	1,15E-03	100,00	–
Суммарный канцерогенный риск (CR _w) – 3 вещества без As	6,59E-03	4,61E-04	4,63E-04	–	–	1,14E-03	1,14E-03	1,15E-03	–	–

Для моделей 1.1 и 1.2 суммарный индивидуальный канцерогенный риск для здоровья при употреблении питьевой воды в течение всей жизни соответствует неприемлемому для населения в целом среднему уровню ($> 10^{-5}$, но менее 10^{-3}), который требует разработки и реализации мероприятий по повышению безопасности питьевой воды. В то же время следует отметить, что полученные расчетные значения рисков очевидно завышены, учитывая, что вклад мышьяка в формирование уровней риска достигает 99,2 % для ВЗ 1 и 98,8 % для ВЗ 2 (при этом доля проб с определением мышьяка в воде была 0 %, вследствие недостаточной чувствительности метода замещали значения на 0,1 НПКО), а вклад незначительных значений концентраций для всех канцерогенов составил соответственно 99,7 % и 99,2 %. Для среднесрочного периода (7 лет, период временных отступлений) на основании максимальных концентраций суммарный канцерогенный риск для здоровья всех возрастных групп населения соответствовал зоне допустимого (условно приемлемого) риска, уровни которого подлежат контролю, а учитывая, что вклад мышьяка составлял более 96 %, то дополнительные мероприятия по снижению риска целесообразно проводить при очередных инфраструктурных изменениях.

Наибольший интерес представляло изучение уровней канцерогенного риска на модели 1.3, где отмечался высокий удельный вес проб с определением потенциальных канцерогенов, в первую очередь побочных продуктов дезинфекции. Для модели 1.3 с поверхностным водозабором установлено, что при пероральном пути поступления суммарный индивидуальный канцерогенный риск для здоровья при употреблении питьевой воды в течение всей жизни от содержания 4 приоритетных канцерогенов (свинец, мышьяк, хлороформ, бромдихлорметан) соответствует среднему уровню ($> 10^{-5}$, но менее 10^{-3}), неприемлемому для населения в целом и возрастной группы «дети 6–18 лет», который требует разработки и реализации мероприятий по повышению безопасности питьевой воды. При этом если пренебречь риском, рассчитанным относительно мышьяка, для населения в целом остается на том же уровне, для детей 2 возрастных групп соответствует допустимому уровню. При этом доля вклада незначительных значений концентраций – только 35 % за счет свинца, максимальный вклад в формирование уровня канцерогенного риска вносят хлороформ (52 %) и бромдихлорметан (48 %).

Для среднесрочного периода (7 лет, период временных отступлений) на основании максимальных концентраций суммарный канцерогенный риск для здоровья всех возрастных групп населения без учета мышьяка на основании М_{ах} концентраций соответствовал зоне допустимого (условно приемлемого) риска, уровни которого подлежат контролю (при учете мышьяка переходит в зону неприемлемого риска, внося дополнительный вклад до 40,35 % в суммарный риск).

Дополнительно, для полноты картины и повышения объективности оценок, учитывая, что приоритетным путем поступления летучих побочных продуктов дезинфекции воды (далее – ППД) является ингаляционный – вклад 73–86,1 % для хлороформа, 98,1–99 % для бромдихлорметан в зависимости от возрастной группы [5, 24], для модели 1.3 проведен расчет суммарного индивидуального канцерогенного риска от всех канцерогенов с учетом множественности путей поступления побочных продуктов дезинфекции (таблица 3). Установлено, что суммарный индивидуальный потенциальный канцерогенный риск с учетом множественных путей поступления приоритетных ППД из питьевой воды оценивается как «высокий» для населения в целом ($CR_w = 6,6E-03$) и «средний» для детей ($CR_w = 4,6E-04$), требующий осуществления мероприятий по его устранению или снижению. Для среднесрочного периода (7 лет, период временных отступлений) на основании максимальных концентраций суммарный канцерогенный риск для здоровья всех возрастных групп населения также относился к «высокому» ($CR_w = 1,14E-03$) вне зависимости от учета мышьяка, удельный вес незначительных значений составил менее 0,03 %.

Расчет интегрального показателя безопасности питьевой воды по химическому составу (Ic) по критериям риска показал, что для долгосрочной экспозиции для ВЗ 1 и ВЗ 2 значение Ic соответственно составляло 3,24 и 4,32 (ведущий критерий риска, определяющий наибольший вклад – риск развития неспецифических токсических эффектов), а на период максимальных временных отступлений (7 лет) – 43,99 и 40,90 (ведущий критерий риска, определяющий наибольший вклад – риск немедленного действия). Для поверхностного источника для долгосрочной экспозиции значение Ic соответствовало 7,35 (ведущий критерий риска, определяющий наибольший вклад – канцерогенный (95 %)), а на период максимальных временных отступлений (7 лет) – 2,76 и 2,22 для максимальных концентраций и P95 соответственно (ведущий критерий риска – риск неспецифических токсических эффектов (57 %) и канцерогенный риск (65 %)).

На последующем этапе для рассмотрения возможности согласования временных отступлений от гигиенических нормативов проведено обобщение и анализ результатов гигиенической оценки

качества питьевой воды с учетом трендов, оценки канцерогенных и неканцерогенных рисков, интегральных показателей безопасности воды по химическому составу с учетом наиболее типичных ситуаций. При анализе моделей 1.1 и 1.2, описывающих наиболее актуальные ситуации для подземных водозаборов, следует отметить, что железо, марганец и нитраты, нормированные по органолептическому лимитирующему показателю вредности, вносят наибольший вклад в формирование хронических неканцерогенных рисков по таким приоритетным («лидирующим») в республике заболеваниям, как заболевания сердечно-сосудистой системы, кроветворной системы и даже центральной нервной системы, а также в сочетании с иными сопутствующими веществами природного происхождения или загрязнителями повышают суммарные неканцерогенные риски практически по всем органам(системам)-мишеням организма. При этом даже на среднесрочный период по ряду систем риски близки к высокому уровню и соответствуют данной градации риска даже при расчете по значениям P95. Согласование отступлений от указанных нормативов целесообразно проводить с учетом оценки рисков на период реализации мероприятий по agravированному сценарию.

При анализе модели 1.3, описывающей ситуацию для поверхностного водозабора, следует отметить, что вещества, влияющие на оценку риска, нормированные по органолептическому лимитирующему показателю вредности, включены не были – отсутствовали данные мониторинга. В то же время проведенные исследования свидетельствуют, что их присутствие внесло бы вклад в формирование неканцерогенного риска по таким органам-мишеням как ЦНС, сердечно-сосудистая система, и тогда при рассмотрении запроса на согласование временных отступлений данное решение было бы нецелесообразным. Требуется внимания и усиленного контроля такой побочный продукт водоподготовки, как остаточные количества коагулянта – алюминия, при этом канцерогенные риски, обусловленные содержанием свинца и побочных продуктов дезинфекции, требуют существенной коррекции.

С учетом вышеизложенного представляется целесообразным следующий алгоритм действий при рассмотрении возможности согласования временных отступлений от гигиенических нормативов питьевой воды по показателям, нормируемым по влиянию на органолептические свойства:

изучение данных многолетнего (не менее 3 лет) мониторинга качества и безопасности питьевой воды по максимальному перечню показателей, оценка динамики качества воды, анализ чувствительности используемых методов исследований для целей оценки риска здоровью;

оценка риска здоровью для различных групп населения при хронической (в течение жизни) и среднесрочной экспозиции (на период реализации мероприятий по реконструкции, строительству систем водоснабжения, иных профилактических мер; оптимальным представляется период от 5 до 7 лет – срок реализации мероприятий целевых программ);

проведение расчета интегрального показателя безопасности питьевой воды по химическому составу (Ic);

определение веществ, вносящих максимальный вклад в формирование рисков, а также вклад интересующего вещества, оценка неопределенностей оценки риска;

обоснование возможности (нецелесообразности) согласования временных отступлений от гигиенических нормативов с учетом изучения перспективных проектных решений.

Предлагаются следующие критерии согласования временных отступлений (оптимальный перечень):

оценка риска проведена по оптимальному сценарию, на основании данных лабораторных исследований, выполненных с применением высокочувствительных методов по максимально возможному перечню показателей, обоснованному с учетом особенностей водопользования, формирования водисточников, применяемых технологий водоподготовки;

целевое вещество – это вещество природного происхождения, не прогнозируются неблагоприятные тенденции его содержания на период временных отступлений;

вещество не относится к канцерогенам и веществам, определяющим значительный вклад в формирование неканцерогенного риска хронического действия;

на период временных отступлений неканцерогенный риск и риск немедленного действия не должны превышать условно приемлемый уровень;

необходимо оценивать содержание и комбинации данного вещества с иными веществами, обладающими однонаправленным действием;

мероприятия должны быть включены в государственную программу или региональный комплекс мероприятий, их ожидаемая эффективность за расчетный период времени должна обеспечить достижение соответствия воды гигиеническим нормативам и минимизации рисков до приемлемых;

расчетные прогнозируемые значения рисков по содержанию иных (кроме целевого) веществ и интегрального показателя безопасности питьевой воды по химическому составу после реализации запланированных мероприятий не должны быть выше текущих;

при проведении сравнительных оценок (в динамике для одного объекта) должны применяться единообразные источники информации, подходы к моделированию незначущих значений, расчетам концентраций для оценки экспозиции, единые критерии оценки приемлемости рисков, учитываться идентичность перечней контролируемых в воде показателей либо обосновываться их отличия.

Результаты исследования по направлению 2: научно обосновать методические подходы оценки риска воздействия химических веществ, определяющих органолептические свойства питьевой воды, при возникновении чрезвычайных (нештатных) ситуаций на системах централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения.

Основным критерием оценки риска для здоровья населения, ассоциированного с употреблением нестандартной питьевой воды при возникновении ЧС на системах ЦХПВ, является потенциальный риск немедленного (рефлекторного) действия. Для оценки эффектов краткосрочного воздействия применяются критерии, позволяющие оценить вероятность (риск) развития ольфакторно-рефлекторных эффектов (эффекты психологического дискомфорта): потенциальный риск немедленного действия веществ, нормируемых по их влиянию на органолептические свойства воды; потенциальный риск обнаружения неспецифического запаха (привкуса) и доля населения, обнаруживающего его; потенциальный риск немедленного действия по показателю мутности, цветности, водородному показателю питьевой воды. Разработан метод оценки риска здоровью населения, обусловленного воздействием химических веществ, определяющих органолептические свойства питьевой воды, при возникновении аварийных (чрезвычайных ситуаций) на централизованных системах питьевого водоснабжения,⁸ и проведена его апробация на 3 моделях.

Оценка риска для модели 2.1 (повреждение/нарушение эксплуатации сооружений водоподготовки, частичное прекращение подачи воды потребителям на водопроводах с подземными водоисточниками): запах интенсивностью 2 балла характеризуется как «слабый», обнаруживается потребителем, если обратить его внимание, риск обнаружения запаха «удовлетворительный» (10–20 % населения обнаруживает запах); привкус интенсивностью 3 балла – «заметный», легко обнаруживается и может быть причиной непригодности воды для питья, риск обнаружения неблагоприятного привкуса «опасный» (обнаруживает около половины населения); риск немедленного действия по показателю мутности питьевой воды (6 ЕМФ) составил 0,067 и оценивается как «удовлетворительный» (возможны частые случаи жалоб населения на дискомфортные состояния, связанные с его воздействием), по показателю цветности питьевой воды оценивается как «неудовлетворительный» 0,402 (возможны систематические жалобы населения на дискомфортные состояния, связанные с воздействием фактора), риск немедленного действия, обусловленный воздействием железа и марганца, оценивается как «опасный» (0,706 и 0,879, соответственно) – возможны массовые случаи жалоб населения на различные дискомфортные состояния, связанные с воздействием веществ при достоверной тенденции к росту общей заболеваемости, появление других эффектов неблагоприятного воздействия (патологии, специфически связанные с типом воздействующего фактора и пр.).

Оценка риска для модели 2 (поступление в водопроводную сеть побочных продуктов хлорирования): запах питьевой воды интенсивностью в 3 балла характеризуется как «заметный», легко обнаруживается потребителем, является причиной непригодности воды для питья, риск обнаружения неблагоприятного запаха «опасный» (обнаруживает около 50 % населения); привкус питьевой воды интенсивностью в 4 балла характеризуется как «отчетливый», привлекает внимание, заставляет воздержаться от употребления воды, риск обнаружения неблагоприятного привкуса «опасный» (обнаруживает около 80–90 % населения); риск немедленного действия по показателю мутности питьевой воды (4 ЕМФ) составляет 0,023 и оценивается как «удовлетворительный», возможны частые случаи жалоб населения на различные дискомфортные состояния, связанные с воздействием оцениваемого фактора; риск немедленного действия, обусловленный воздействием хлороформа, составил 0,203, характеризуется как «неудовлетворительный» – возможны систематические жалобы населения на различные

⁸ Метод оценки риска здоровью населения, обусловленного воздействием химических веществ, определяющих органолептические свойства питьевой воды, при возникновении аварийных (чрезвычайных ситуаций) на централизованных системах питьевого водоснабжения : инструкция по применению: утв. Гл. гос. санитар. врачом Респ. Беларусь 14.12.2021, рег. № 015-1121 / С. И. Сычик [и др.]. – Минск, [б. и.], 2021. – 28 с.

дискомфортные состояния (неприятные запахи, рефлекторные реакции и пр.) при тенденции к росту общей заболеваемости, которая, как правило, носит достоверный характер.

Оценка риска для модели 3 (повреждение промышленных установок, сопровождающееся утечкой нефтепродуктов): запах интенсивностью 4 балла характеризуется как «отчетливый», привлекает внимание, может заставить воздержаться от питья, риск обнаружения запаха «опасный» (обнаруживает 80–90 % населения); привкус интенсивностью 5 баллов характеризуется как «очень сильный», делает воду непригодной для питья, риск обнаружения неблагоприятного привкуса «чрезвычайно опасный» (обнаруживает 95 % населения). Загрязнение перешло в иное качественное состояние, которое должно оцениваться с использованием более специфических моделей; риск немедленного действия по показателю мутности питьевой воды (4,7 ЕМФ) составил 0,034 и оценивается как «удовлетворительный» – возможны частые случаи жалоб населения на дискомфортные состояния, связанные с его воздействием; риск немедленного действия по показателю цветности питьевой воды (42 градуса) составил 0,303 и оценивается как «неудовлетворительный» – возможны систематические жалобы населения на различные дискомфортные состояния, связанные с воздействием оцениваемого фактора; риск немедленного действия, обусловленный воздействием нефтепродуктов, оценивается как «неудовлетворительный» (0,485) – возможны систематические жалобы населения на различные дискомфортные состояния, связанные с воздействием веществ (неприятные запахи, рефлекторные реакции и пр.) при тенденции к росту общей заболеваемости, которая, как правило, носит достоверный характер.

Разработаны номограммы, позволяющие провести экспресс-оценку риска здоровью населения в отношении химических веществ, способных повлиять на органолептические свойства питьевой воды, по кратности предельно допустимой концентрации химических веществ в воде в диапазоне от 1 до 20 ПДК.

Заключение. Методология оценки риска здоровью является гибким и рациональным инструментом при осуществлении государственного санитарного надзора за факторами среды обитания человека различной природы. Результаты проведенных исследований позволили обосновать следующие перспективные направления имплементации в практику методологии оценки рисков здоровью, ассоциированных с воздействием веществ в воде, влияющих на органолептические свойства воды:

1) принятие оперативных решений при возникновении аварийных (чрезвычайных ситуаций) на централизованных системах питьевого водоснабжения, сопровождающихся поступлением в воду химических веществ, определяющих органолептические свойства питьевой воды. Установление величины и оценка потенциального риска немедленного (рефлекторного) действия химических веществ, для которых гигиенический норматив установлен по органолептическому лимитирующему признаку вредности, позволяет оценить вероятность и распространенность случаев жалоб населения на различные дискомфортные состояния, связанные с воздействием этих веществ, и в случае значительного отклонения от гигиенических нормативов безопасности предположить возможные тенденции в общей заболеваемости населения. Разработанный метод позволяет в кратчайшие сроки дать оценку риска здоровью населения и повысить оперативность принятия решений при возникновении чрезвычайных ситуаций, что в настоящее время широко используется на практике;

2) формирование доказательной базы при согласовании временных отступлений от гигиенических нормативов для веществ, нормированных по влиянию на органолептические свойства воды, на период планирования и реализации мероприятий профильных государственных программ по водоснабжению и водоотведению (например, подпрограммы «Чистая вода» Государственной программы «Комфортное жилье и благоприятная среда»). Предложен инструментальный алгоритм и критерии рассмотрения возможности временных отступлений с учетом приоритетов для республики.

Таким образом, применение предложенных методических подходов к оценке рисков здоровью, ассоциированных с воздействием химических веществ, влияющих на органолептические свойства питьевой воды, при надзоре за безопасностью питьевого и хозяйственно-бытового водопользования в дополнение к традиционным подходам позволяет создать доказательную базу для обоснования оперативных и долгосрочных управленческих решений. При этом его эффективное применение требует внедрения современных высокоточных и высокоселективных методов определения всех приоритетных загрязнителей. Дополнительно в качестве сопутствующего вывода представляется необходимым актуализация (ужесточение) гигиенических нормативов для содержания остаточных количеств коагулянтов и побочных продуктов дезинфекции с учетом современных данных о токсичности и опасности веществ и множественных путей их поступления в организм из воды.

Литература

1. Дроздова, Е. В. Медико-экологические риски в контексте устойчивого развития / Е. В. Дроздова // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены ; редкол.: С. И. Сычик (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2019. – Вып. 29. – С. 168–177.
2. Зайцева, Н. В. К вопросу оценки потенциального риска причинения вреда здоровью при осуществлении хозяйственной деятельности в сфере «Сбор и очистка воды» и степени его реализации / Н. В. Зайцева, С. В. Клейн // Анализ риска здоровью. – 2018. – № 3. – С. 40–53.
3. Клейн, С. В. Приоритетные факторы риска питьевой воды систем централизованного питьевого водоснабжения, формирующие негативные тенденции в состоянии здоровья населения / С. В. Клейн, С. А. Вековшинина // Анализ риска здоровью. – 2020. – № 3. – С. 49–60.
4. Дроздова, Е. В. Научное обоснование актуализации гигиенических нормативов безопасности питьевой воды / Е. В. Дроздова // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены ; редкол.: С. И. Сычик (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2022. – Вып. 32. – С. 219–240.
5. Дроздова, Е. В. Риск здоровью населения, ассоциированный с воздействием побочных продуктов дезинфекции в питьевой воде с учетом множественности путей их поступления / Е. В. Дроздова // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики : рец. ежегод. сб. науч. тр. : в 2 т. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Белорус. гос. мед. ун-т ; под ред. С. П. Рубниковича, В. А. Филонюка. – Минск, 2023. – Вып. 13, Т. 2. – С. 159–168.
6. Подходы к оценке значимости множественных путей экспозиции при гигиенической регламентации химических веществ в питьевой воде / Е. В. Дроздова, С. И. Сычик, В. В. Бурая, В. В. Гирина // Актуальные вопросы анализа риска при обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия населения и защиты прав потребителей : материалы VIII Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, Пермь, 16–18 мая 2018 г. / Федер. служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека [и др.] ; под ред. А. Ю. Поповой, Н. В. Зайцевой. – Пермь, 2018. – С. 50–54.
7. К вопросу о методических подходах к гигиеническому нормированию химических веществ в питьевой воде с учетом множественности путей поступления в организм / Е. В. Дроздова, И. А. Просвирякова, А. Е. Пшегорода [и др.] // Здоровье и окружающая среда : сб. материалов междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 95-летию респ. унитар. предприятия «Научно-практический центр гигиены», 24–25 нояб. 2022 г., г. Минск / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены, Белорус. науч. о-во гигиенистов ; под общ. ред.: А. А. Тарасенко. – Минск, 2022. – С. 18–22.
8. Содержание хлороформа в крови населения как биомаркер экспозиции побочными продуктами дезинфекции питьевой воды / Е. В. Дроздова, С. И. Сычик, В. Э. Сяхович [и др.] // Медицинский журнал. – 2023. – № 1. – С. 23–32.
9. Polymorphisms of xenobiotic metabolism enzyme genes CYP2E1, GSTM1, GSTT1, EPHX1 as biomarkers of sensitivity to exposure to water disinfection byproducts (using chloroform as an example) / E. V. Drozdova, K. V. Kaliasniova, V. E. Syakhovich [et al.] // Health Risk Analysis. – 2023. – № 1. – P. 157–170.
10. Experimental models of animal chronic pathology in assessing health risks for sensitive population groups / E. V. Drozdova, S. I. Sychik, V. A. Hrynychak [et al.] // Health Risk Analysis. – 2022. – № 2. – P. 185–195.
11. Дроздова, Е. В. Обоснование актуализации гигиенического норматива бария в питьевой воде на основе данных о комплексном поступлении в организм и оценки рисков здоровью / Е. В. Дроздова // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены ; редкол.: С. И. Сычик (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2022. – Вып. 32. – С. 21–34.
12. Дроздова, Е. В. Интегральная оценка питьевой воды по химическому составу в системе профилактических мер: методология, критерии оценки, применение / Е. В. Дроздова // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены ; редкол.: С. И. Сычик (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2023. – Вып. 33. – С. 10–23.
13. Дроздова, Е. В. Моделирование агрегированной экспозиции химических веществ биологического происхождения при различных видах водопользования на примере приоритетных цианотоксинов / Е. В. Дроздова // Проблемы здоровья и экологии. – 2024. – Т. 21, № 2. – С. 103–116.
14. Изучение микробиологического профиля питьевой воды на этапе обоснования референтных патогенов для количественной оценки рисков здоровью / Е. В. Дроздова, Н. В. Дудчик, Д. С. Грек [и др.] // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены ; редкол.: С. И. Сычик (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2020. – Вып. 30. – С. 14–22.

15. Оценка интегральной токсичности факторов и объектов среды обитания с использованием альтернативных биологических тест-моделей: методология и технологии / Е. В. Дроздова, Н. В. Дудчик, С. И. Сычик, В. В. Шевляков ; М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены. – Минск : БелНИИТ «Транстехника», 2017. – 212 с.

16. Протокол по проблемам воды и здоровья как потенциальный инструмент достижения целей устойчивого развития в области водоснабжения, водоотведения и охраны водных ресурсов / С. И. Сычик, Е. В. Дроздова, И. А. Просвирякова [и др.] // Анализ риска здоровью – 2021. Внешнесредовые, социальные, медицинские и поведенческие аспекты. Совместно с международной встречей по окружающей среде и здоровью RISE-2021 : материалы XI Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием : в 2 т. / под ред. А. Ю. Поповой, Н. В. Зайцевой. – Пермь, 2021. – Т. 1. – С. 44–50.

17. Качество питьевой воды: временные отступления от гигиенических нормативов / Ю. А. Новикова, В. Н. Федорова, Н. А. Тихонова [и др.] // Здоровье населения и среда обитания. – 2021. – Т. 29, № 9. – С. 33–39.

18. Нитраты в воде источников нецентрализованного питьевого водоснабжения Республики Беларусь: оценка влияния на состояние здоровья детей в возрасте до 6 лет / Д. А. Будников, В. В. Бурая, Е. В. Дроздова [и др.] // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Респ. науч.-практ. центр гигиены ; редкол.: Л. В. Половинкин (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2012. – Вып. 21. – С. 309–318.

19. Совершенствование санитарно-гигиенического нормирования размещения источников нецентрализованного хозяйственно-питьевого водоснабжения, заключений санэпидслужбы о качестве среды обитания, проблемы оценки содержания в воде бора и бария, измерений температуры воды из квартирных водоразборов / С. Г. Позин, В. В. Рызгунский, А. С. Долгин [и др.] // Военная медицина. – 2012. – № 2. – С. 93–97.

20. Критерии оценки риска здоровью населения при возникновении чрезвычайных (нештатных) ситуаций на системах централизованного питьевого водоснабжения / И. А. Просвирякова, Е. В. Дроздова, А. Е. Пшегорода [и др.] // Актуальные вопросы гигиены : сб. науч. тр. VIII Всерос. заоч. науч.-практ. конф. с междунар. участием, Санкт-Петербург, 25 февр. 2023 г. / М-ва здравоохранения Рос. Федерации ; Сев.-Зап. гос. мед. ун-т имени И. И. Мечникова ; под ред. Л. А. Аликбаевой. – СПб., 2023. – С. 238–246.

21. Strengthening drinking-water surveillance using risk-based approach / WHO. – Copenhagen : WHO Regional Office for Europe, 2019. – 43 p.

22. К вопросу об образовании побочных продуктов дезинфекции питьевой воды (регламентируемых и эмерджентных), их генотоксических и канцерогенных свойствах: обзор проблемы и направления дальнейших исследований / Е. В. Дроздова, В. В. Бурая, В. В. Гирина [и др.] // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены ; гл. ред. С. И. Сычик. – Минск, 2016. – Вып. 26. – С. 12–16.

23. Дроздова, Е. В. Сравнительный анализ национальных показателей безопасности питьевой воды с международными, региональными и национальными стандартами развитых стран / Е. В. Дроздова // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены ; гл. ред. С. И. Сычик. – Минск, 2018. – Вып. 28. – С. 5–20.

24. Рахманин, Ю. А. Современные методические подходы к оценке риска здоровью населения от воздействия химических веществ / Ю. А. Рахманин, Н. С. Додина, А. В. Алексеева // Анализ риска здоровью. – 2023. – № 4. – С. 33–41.

Drazdova A. V.

METHODOLOGY OF HEALTH RISK ASSESSMENT for JUSTIFICATION OF TEMPORARY DEVIATIONS FROM HYGIENIC STANDARDS ON CHEMICALS AND decisions in EMERGENCIES ON CENTRALIZED DOMESTIC AND DRINKING WATER SUPPLY SYSTEMS

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

The purpose of this paper is to scientifically substantiate methodological approaches to the application of health risk assessment in the approval of temporary deviations from drinking water safety standards for chemical indicators and criteria for assessing the risk of exposure of chemical substances that determine the organoleptic properties of drinking water on public health in emergency (non-emergency) situations in centralized drinking water supply systems. The results of laboratory control of drinking water of centralized

drinking water supply systems on organoleptic and sanitary-chemical indicators for a 3-year period, obtained within the framework of supervisory activities and industrial laboratory control, were used as initial data. The results of the conducted research allowed to substantiate promising directions of implementation in practice of the methodology of health risk assessment associated with exposure to substances in water affecting organoleptic properties of water: 1) operational decision-making in case of emergencies (emergency situations) on centralized drinking water supply systems, accompanied by the ingress of chemical substances that determine the organoleptic properties of drinking water; 2) formation of evidence base when agreeing on temporary deviations from hygienic standards for substances, normalized for their impact on organoleptic properties of water, for the period of planning and implementation of activities of state programs on water supply and sanitation (for example, in the period of planning and implementation of measures of specialized state programs on water supply and sanitation); 2) formation of evidence base when agreeing on temporary deviations from hygienic standards for substances, normalized for their impact on organoleptic properties of water. A toolkit is proposed: an algorithm and criteria for considering the possibility of temporary deviations taking into account the priorities for the republic. At the same time, effective application of proven approaches requires introduction of modern high-precision and highly selective methods for determination of all priority pollutants.

Keywords: drinking water, health risk assessment, temporary deviations from hygienic standards, organoleptic indicators, emergency situation, centralized drinking water supply system.

References

1. Drazdova E. V. Medical-ecological risks in the context of sustainable development. In: Sychik S. I., chief ed.; Kosyachenko G. E., dep. chief. ed. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda* [Health and environment]: Collection of scientific papers of the Scientific Practical Centre of Hygiene. Iss. 29. Minsk; 2019: 168–77. (in Russian)

2. Zaitseva N. V., Kleyn S. V. On assessing potential risk of damage to health when dealing with water collection and purification and probability of its occurrence. *Analiz riska zdorov'yu* [Health risk analysis]. 2018; 3: 40–53. (in Russian)

3. Kleyn S. V., Vekovshinina S. A. Priority risk factors related to drinking water from centralized water supply system that create negative trends in population health. *Analiz riska zdorov'yu* [Health risk analysis]. 2020; 3: 49–60. (in Russian)

4. Drazdova E. V. Scientific substantiation of actualization of drinking water hygienic standards. In: Sychik S. I., chief ed.; Kosyachenko G. E., dep. chief. ed. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda* [Health and environment]: Collection of scientific papers of the Scientific Practical Centre of Hygiene. Iss. 32. Minsk; 2022: 219–40. (in Russian)

5. Drazdova E. V. Health risk associated with exposure to disinfection by-products in drinking water, taking into account multiple pathways exposure. In: Rubnikov S. P., Filonyuk V. A. chief eds. *BGMU v avangarde meditsinskoi nauki i praktiki* [BSMU is at the forefront of medical science and practice]: Collection of scientific papers of the BSMU. 2023; 13; 2: 159–68. (in Russian)

6. Drazdova E. V., Sychik S. I., Buraya V. V. et al. Approaches to assessing the significance of multiple exposure routes in the hygienic regulation of chemicals in drinking water In: Popova A. Y., Zaytseva N. V., eds. *Topical issues of risk analysis in sanitary and epidemiological well-being of the population and consumer protection: Materials of the VIII All-Russian Scientific and Practical Conference with international participation*. Perm; 2018: 50–4. (in Russian)

7. Drazdova E. V., Prosviryakova I. A., Pshegroda A. E. et al. On the issue of methodological approaches to hygienic regulation of chemicals in drinking water, taking into account the multiple routes of entry into the body. Methodological approaches to the integral assessment of health risks associated with water use. In: Tarasenko A. A., Sychik S. I., chief eds. *Proceedings of the international scientific-practical conference «Health and environment», dedicated 95th anniversary of the Republican Unitary Enterprise «Scientific-Practical Centre of Hygiene», 24–25 Nov. 2022*. Minsk; 2022: 18–22. (in Russian)

8. Drazdova E. V., Sychik S. I., Syakhovich V. E. et al. Chloroform content in the blood of the population as a biomarker of exposure to by-products of drinking water disinfection. *Meditsinskii zhurnal* [Medical journal]. 2023; 1: 23–32. (in Russian)

9. Drozdova E. V. Polymorphisms of xenobiotic metabolism enzyme genes CYP2E1, GSTM1, GSTT1, EPHX1 as biomarkers of sensitivity to exposure to water disinfection byproducts (using chloroform as an example). *Health Risk Analysis*. 2023; 1: 157–70.

10. Drozdova E. V. Experimental models of animal chronic pathology in assessing health risks for sensitive population groups. *Health Risk Analysis*. 2022; 2: 185–95.

11. Drozdova A. V. Substantiation of actualization of hygienic standard of barium in drinking water based on data on complex intake and health risk assessment. In: Sychik S. I., chief ed.; Kosyachenko G. E., dep. chief. ed. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda* [Health and environment]: Collection of scientific papers of the Scientific Practical Centre of Hygiene. Iss. 32. Minsk; 2022: 21–34. (in Russian)
12. Drazdova A. V. Integral assessment of drinking water by chemical composition in the system of preventive measures: methodology, assessment criteria, application. In: Sychik S. I., chief ed. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda* [Health and environment]: Collection of scientific papers of the Scientific Practical Centre of Hygiene. Iss. 33. Minsk; 2023: 10–23. (in Russian)
13. Drazdova A. V. Modeling of aggregated exposure to chemical substances of biological origin for various types of water use using the example of priority cyanotoxins. *Problemy zdorov'ya i ehkologii* [Health and Ecology Issues]. 2024; 21(2): 103–16.
14. Drazdova A. V., Dudchik N. V., Grek D. S. et al. Study of the microbiological profile of drinking water at the stage of substantiation of reference pathogens for quantitative microbial risk assessment In: Sychik S. I., chief ed. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda* [Health and environment]: Collection of scientific papers of the Scientific Practical Centre of Hygiene. Iss. 30. Minsk; 2020: 14–22. (in Russian)
15. Drozdova E. V., Dudchik N. V., Sychik S. I., Shevlyakov V. V. Assessment of the integral toxicity of environmental factors and objects using alternative biological test models: methodology and technologies. Minsk; 2017. 212 p. (in Russian)
16. Sychik S. I., Drozdova E. V., Prosviryakova I. A. et al. Protocol on water and health as a potential tool for achieving sustainable development goals in the field of water supply, sanitation and water conservation. In: Popova A. Y., Zaitseva N. V., eds. *Health risk analysis – 2021 external, social, medical and behavioral aspects jointly with the international meeting on environment and health rise-2021*: Materials XI All-Russian scientific and practical conference with international. Vol. 1. Perm; 2021: 44–50. (in Russian)
17. Novikova Y. A., Fedorov V. N., Tikhonova N. A. et al. Drinking water quality: temporary deviations from hygienic standards. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya* [Public Health and Life Environment]. 2021; 29(9): 33–9. (in Russian)
18. Budnikov D. A., Buraya V. V., Drozdova E. V. et al. Nitrates in the sources of decentralized water supplies in belarus: health impact assessment for children under 6 years old In: Polovinkin L. V., chief ed. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda* [Health and environment]: Collection of scientific papers of the Scientific Practical Centre of Hygiene. Iss. 21. Minsk; 2012: 309–18. (in Russian)
19. Pozin S. G., Ryzginsky V. V., Dolgin A. S. et al. Perfection of sanitary-and-hygienic normalization of accommodation of sources of not centralized economic-drinking water supply, the conclusions sanitary inspection, about quality of an inhabitancy, a problem of an estimation of the maintenance in water of a boron and barium, measurements of temperature of water from room water-analyses. *Voennaya meditsina* [Military medicine]. 2012; 2: 93–7. (in Russian)
20. Prosviryakova I. A., Drozdova E. V., Pshegroda A. E. et al. Criteria for assessing the risk to public health in the event of emergency (contingency) situations on centralized drinking water supply systems. In: Alikbaeva L. A., ed. *Current issues of hygiene*: Sat. scientific tr. VIII All-Russian. in absentia scientific-practical conf. with international participation, St. Petersburg, 25 Febr. 2023. St. Petersburg; 2023: 238–46. (in Russian)
21. WHO. Strengthening drinking-water surveillance using risk-based approaches. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2019. 43 p.
22. Drozdova E. V., Buraya V. V., Girina V. V. et al. On the formation of drinking water disinfection by-products (regulated and emergent), their genotoxicity and carcinogenic effects: review and perspectives for further studies. In: Sychik S.I., chief ed. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda* [Health and environment]: Collection of scientific papers of the Scientific Practical Centre of Hygiene. Iss. 26. Minsk; 2016: 12–6. (in Russian)
23. Drazdova A. V. Comparative analysis of national hygienic standards of drinking water quality with international, regional and national requirements of developed countries. In: Sychik S. I., chief ed. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda* [Health and environment]: Collection of scientific papers of the Scientific Practical Centre of Hygiene. Iss. 28. Minsk; 2018: 5–20. (in Russian)
24. Rakhmanin Yu. A., Dodina N. S., Alekseeva A. V. Modern methodological approaches to assessing public health risks due to chemicals exposure. *Analiz riska zdorov'yu* [Health risk analysis]. 2023; 4: 33–41. (in Russian)

Дудчик Н. В., Емельянова О. А., Науменко С. А., Ивко Н. А.

ТЕХНОЛОГИЯ ПОДДЕРЖАНИЯ МОНОКУЛЬТУР И ПОЛИМИКРОБНЫХ КОНСОРЦИУМОВ МИКРООРГАНИЗМОВ КАК ПРОКАРИОТИЧЕСКИХ ТЕСТ-МОДЕЛЕЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ И ГИГИЕНИЧЕСКОЙ РЕГЛАМЕНТАЦИИ ФАКТОРОВ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ ЧЕЛОВЕКА

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. В условиях эксперимента *in vitro* обоснована технология поддержания монокультур и полимикробных консорциумов микроорганизмов как прокариотических тест-моделей для оценки биологического действия и гигиенической регламентации факторов среды обитания человека. Полученные в лабораторном эксперименте результаты подтвердили эффективность выбранного формата криохранения при температурных режимах $(-80 \pm 2)^\circ\text{C}$ в питательной среде, содержащей 10 % криопротектора. Монокультуры микроорганизмов и полимикробные консорциумы микроорганизмов обладали типичными морфологическими, культуральными и физиолого-биохимическими признаками, а также хорошими ростовыми свойствами, что подтверждает пригодность используемой в лаборатории технологии к подготовке и поддержанию прокариотических тест-моделей.

Ключевые слова: культуры микроорганизмов, консорциумы, криохранение, стабильность фенотипических параметров.

Введение. Основная задача хранения и поддержания культур микроорганизмов – сохранение их жизнеспособности, создание условий для стабильности критически важных фенотипических признаков с целью разработки прокариотических тест-моделей для оценки биологического действия и гигиенической регламентации факторов среды обитания человека [1–3].

К методу, применяемому для хранения культур, предъявляется ряд требований: обеспечение высокого уровня выживаемости микроорганизмов; отсутствие запуска механизмов селекции в клеточной популяции во избежание формирования и накопления клона клеток с повышенной резистентностью к неблагоприятным внешним воздействиям; обеспечение сохранности естественного разнообразия микробной популяции; поддержание стабильности биологических свойств микроорганизмов; чистота сохраняемой культуры, невозможность ее контаминации посторонней микробиотой в процессе хранения и при культивировании на питательных средах [4, 5].

Цель работы – обоснование применения технологии поддержания монокультур и полимикробных консорциумов микроорганизмов как прокариотических тест-моделей для оценки биологического действия и гигиенической регламентации факторов среды обитания человека.

Материалы и методы. Разработку технологии поддержания монокультур и полимикробных консорциумов микроорганизмов проводили с использованием типовых штаммов условно-патогенных микроорганизмов из рабочей коллекции лаборатории изучения микробиоты объектов среды обитания человека и молекулярно-биологических исследований научно-исследовательского института гигиены, токсикологии, эпидемиологии, вирусологии и микробиологии государственного учреждения «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», а также изолятов, выделенных из объектов среды технологического окружения фармацевтических производств.

Использовали суточную культуру микроорганизмов, при этом штаммы бактерий инокулировали на недифференцированную плотную питательную среду и инкубировали при $(35 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 24 ч. В качестве питательной среды для бактерий использовали мясо-пептонный агар, который обладает высокими ростовыми свойствами, однородной консистенцией и умеренной интенсивностью окраски. Методом серийных разведений добивались требуемой концентрации клеток микроорганизмов.

Результаты и их обсуждение. Для обоснования применения технологии поддержания монокультур и полимикробных консорциумов микроорганизмов как прокариотических тест-моделей для оценки биологического действия и гигиенической регламентации факторов среды обитания человека были использованы методы субкультивирования на питательных средах, хранения под минеральным маслом и замораживания.

Субкультивирование является одним из широко используемых в лабораторной практике методом хранения и поддержания культур, который обеспечивает стабильность бактериальной культуры

в течение 3–4 месяцев, при этом пассирование культур проводится ограниченно для минимизации селекционного давления. После пассирования культура оценивается по показателям чистоты и стабильности фенотипических параметров [1, 3].

Хранение культур микроорганизмов под минеральным маслом при температурных режимах $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ обеспечивает их стабильность и жизнеспособность в течение нескольких лет. Периодически культуры оцениваются по культурально-морфологическим, тинкториальным и биохимическим показателям [1, 3].

Технологию криохранения микроорганизмов, являющуюся наиболее прецизионной и надежной, использовали как в виде обычного замораживания, так и при экстремально низких температурах.

При обычном замораживании культуру микроорганизмов плотностью не более 10^9 КОЕ/мл в стерильном физиологическом растворе вносили в соответствующие пробирки и сохраняли при $(-20 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение периода до 1,5 года.

Для криохранения при экстремально низких температурах использовали специализированный морозильник, обеспечивающий поддержание температуры в диапазоне $(-80 \pm 2)^\circ\text{C}$. Накопительные культуры микроорганизмов центрифугировали в условиях асептики, ресуспендировали в стерильной среде с содержанием 10 % криопротектора глицерина. Глицерин обеспечивает стабильность микроорганизмов и их устойчивость к дегидратации. Культуры микроорганизмов в криопробирках сохраняли при температурных режимах $(-80 \pm 2)^\circ\text{C}$. Для восстановления культуры проводили дефростацию на водяной бане при $(35 \pm 2)^\circ\text{C}$ и перемешивании, а затем культивировали в оптимальных условиях.

Для подтверждения сохранения типичных для исходных штаммов культуральных и биохимических свойств монокультур и консорциумов использовали недифференцированные питательные среды, а также селективные плотные среды, на которых микроорганизмы формируют колонии определенной морфологии.

Результаты оценки эффективности поддержания монокультур и полимикробных консорциумов в лабораторных условиях представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты оценки эффективности поддержания монокультур и полимикробных консорциумов

Микроорганизм	Недифференцированная питательная среда		Селективная питательная среда	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	триптон-соевый агар	типичный рост	агар Эндо	типичный рост
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	триптон-соевый агар	типичный рост	агар Байрд-Паркер	типичный рост
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442	триптон-соевый агар	типичный рост	цетримидный агар	типичный рост
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	триптон-соевый агар	типичный рост	дезоксихолат-лактозный агар	типичный рост
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	триптон-соевый агар	типичный рост	среда Плоскирева	типичный рост
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	триптон-соевый агар	типичный рост	среда с полимиксином В	типичный рост
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	агар Сабуро с декстрозой	типичный рост	–	–
<i>Enterobacter aerogenes</i> (изолят)	триптон-соевый агар	типичный рост	дезоксихолат-лактозный агар	типичный рост
<i>Burkholderia spp.</i> (изолят)	триптон-соевый агар	типичный рост	–	–
<i>Pseudomonas luteola</i> (изолят)	триптон-соевый агар	типичный рост	цетримидный агар	типичный рост
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (изолят)	триптон-соевый агар	типичный рост	цетримидный агар	типичный рост
<i>Staphylococcus pneumoniae</i> (изолят)	триптон-соевый агар	типичный рост	–	–
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (изолят)	триптон-соевый агар	типичный рост	дезоксихолат-лактозный агар	типичный рост

Микроорганизм	Недифференцированная питательная среда		Селективная питательная среда	
	триптон-соевый агар	типичный рост	агар Байрд-Паркер	типичный рост
<i>Micrococcus luteus</i> (изолят)	триптон-соевый агар	типичный рост	агар Байрд-Паркер	типичный рост
<i>Klebsiella kristinae</i> (изолят)	триптон-соевый агар	типичный рост	агар Байрд-Паркер	типичный рост
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> (изолят)	триптон-соевый агар	типичный рост	агар Байрд-Паркер	типичный рост
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229 + <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 (сконструированный консорциум)	триптон-соевый агар	типичный рост	агар Эндо, агар Байрд-Паркер	типичный рост
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442 + <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 (сконструированный консорциум)	триптон-соевый агар	типичный рост	агар Байрд-Паркер, цетримидный агар	типичный рост
<i>Enterobacter aerogenes</i> + <i>Klebsiella pneumoniae</i> (сконструированный консорциум)	триптон-соевый агар	типичный рост	дезоксихолат-лактозный агар	типичный рост
<i>Staphylococcus paucimobilis</i> + <i>Klebsiella kristinae</i> (изолированный консорциум)	триптон-соевый агар	типичный рост	агар Байрд-Паркер	типичный рост
Смесь микроорганизмов рода <i>Cronobacter</i> (изолированный консорциум)	триптон-соевый агар	типичный рост	–	–

Как видно из таблицы 1, все монокультуры микроорганизмов и полимикробные консорциумы микроорганизмов характеризовались типичными морфологическими, культуральными и физиолого-биохимическими признаками, а также хорошими ростовыми свойствами, что подтверждает пригодность используемой в лаборатории технологии к подготовке и поддержанию прокариотических тест-моделей.

Заключение. В условиях лабораторного моделирования обоснована технология поддержания и длительного хранения монокультур микроорганизмов и полимикробных консорциумов с учетом сохранения критериально важных фенотипических признаков микроорганизмов.

Сведения о НИР. НИР «Обосновать методологию и разработать тест-модели на базе монокультур и консорциумов микроорганизмов для изучения биологического действия неравновесной плазмы» ГПНИ «Конвергенция-2025», регистрационный номер 20211988.

Литература

1. Ning Guo, Qiang Wei, Yi Xu. Optimization of cryopreservation of pathogenic microbial strains / Ning Guo, Qiang Wei, Yi Xu // Journal of Biosafety and Biosecurity. – 2020. – Vol. 2, № 2. – P. 66–70.
2. Бактериальные профили и фенотипические биомаркеры изолятов микробиоты среды обитания: факторы идентификации опасности / Н. В. Дудчик, С. И Сычик, О. Е. Нежвинская [и др.] // Анализ риска здоровью. – 2020. – № 2. – P. 92–100.
3. Gültekin-Özgülven, M. Influence of processing conditions on procyanidin profiles and antioxidant capacity of chocolates: Optimization of dark chocolate manufacturing by response surface methodology / M. Gültekin-Özgülven, İ. Berktaş, B. Özçelik // LWT – Food Science and Technology. – 2016. – Vol. 66 – P. 252–259.
4. Филонюк, В. А. Методология гигиенического регламентирования микробных препаратов и разработки методик выполнения измерений содержания микроорганизмов в воздухе рабочей зоны / В. А. Филонюк, В. В. Шевляков, Н. В. Дудчик. – Минск : БелНИИТ «Транстехника», 2018. – 264 с.
5. Дудчик, Н. В. Изучение свойств консорциума почвенных микроорганизмов как тест-объектов для оценки интегральной токсичности / Н. В. Дудчик // Гигиена и санитария. – 2012. – Т. 91, № 5. – С. 82–84.

Dudchik N. V., Emeliyanova O. A., Naumenko S. A., Ivko N. A.

TECHNOLOGY FOR MAINTAINING MONOCULTURES AND POLYMICROBIAL CONSORTIA OF MICROORGANISMS AS PROKARYOTIC TEST MODELS FOR ASSESSMENT OF BIOLOGICAL EFFECTS AND HYGIENIC REGULATION OF HUMAN ENVIRONMENTAL FACTORS

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

The technology of maintaining monocultures and polymicrobial consortia of microorganisms as prokaryotic test models for assessment of biological effect and hygienic regulation of environmental factors in human habitat was substantiated in the conditions of *in vitro* experiment. The results obtained in the laboratory experiment confirmed the efficiency of the selected cryopreservation format at temperature regimes (-80 ± 2) °C in a nutrient medium containing 10 % cryoprotectant. Monocultures of microorganisms and polymicrobial consortia of microorganisms had typical morphological, cultural and physiological-biochemical features, as well as good growth properties, which confirms the suitability of the technologies used in the laboratory for the preparation and maintenance of prokaryotic test models.

Keywords: microbial cultures, consortia, cryopreservation, stability of phenotypic parameters.

References

1. Ning Guo, Qiang Wei, Yi Xu. Optimization of cryopreservation of pathogenic microbial strains. *J Biosaf Biosecur.* 2020; 2(2): 66–70.
2. Dudchik N. V., Sychik S. I., Nezhvinskaya O. E. et al. Bacterial profiles and phenotypic biomarkers of microbiota isolates in habitat: hazard identification factors. *Health Risk Anal.* 2020; 2: 92–100. (in Russian).
3. Gültekin-Özgülven M., Berktaş İ., Özçelik B. Influence of processing conditions on procyanidin profiles and antioxidant capacity of chocolates: Optimization of dark chocolate manufacturing by response surface methodology. *LWT Food Sci Technol.* 2016; 66: 341–6.
4. Filanyuk, V. A., Shevlyakov V. V., Dudchik N. V. Methodology of microbial preparations hygienic regulation and methods of measurements microorganisms' content in the working zone air. Minsk: BelNIIT; 2018. (in Russian).
5. Dudchik, N. V. Study of the properties of a consortium of soil microorganisms as test objects for assessing integral toxicity. *Gig Sanit.* 2012; 91(5): 82–4. (in Russian).

e-mail для переписки: n_dudchik@mail.ru

Поступила 11.10.2024

УДК 579.8:533.9-115

Дудчик Н. В., Емельянова О. А., Симончик Л. В.¹, Казак А. В.¹, Долгина Н. А.

РЕЗУЛЬТАТЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ ОЦЕНКИ АНТИМИКРОБНОГО ПОТЕНЦИАЛА НЕРАВНОВЕСНОЙ ПЛАЗМЫ НА КОНСОРЦИУМАХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

¹ Государственное научное учреждение «Институт физики им. Б. И. Степанова Национальной академии наук Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. В условиях эксперимента *in vitro* проведена количественная оценка антимикробного потенциала неравновесной (низкотемпературной) воздушной плазменной струи с использованием тест-моделей надклеточного (субпопуляционного) уровня – консорциумов микроорганизмов. Выявлена более высокая устойчивость к плазменной обработке природных консорциумов по сравнению с консорциумами, сконструированными в лабораторных условиях. Наиболее низкий показатель R отмечен для консорциума *Sphingomonas paucimobilis* и *Kocuria kristinae*, выделенного при мониторинге объектов технологической среды фармацевтических производств. Экспозиция в течение 15 минут приводила к инактивации лишь 10,5 % консорциума, состоящего из *S. paucimobilis* и *K. kristinae*. Показано, что тест-модели надклеточного (субпопуляционного) уровня – консорциумы

микроорганизмов являются релевантными моделями для оценки антимикробного потенциала физических факторов.

Ключевые слова: консорциумы, моделирование, низкотемпературная плазма, антимикробное действие.

Введение. В объектах среды обитания человека микроорганизмы, как правило, встречаются в составе консорциумов, которые представляют собой стабильные прокариотические ассоциации [1–3]. Генотипические и фенотипические признаки штаммов, образующих консорциум, в значительной степени отличаются от типовых признаков микроорганизмов, являющихся их компонентами. В частности, это касается таких признаков, как метаболическая активность, способность продуцировать экзогенные ферменты, устойчивость/чувствительность к неблагоприятным факторам окружающей среды физической и химической природы. Как правило, консорциумы представляют собой природные ассоциации, но могут быть сконструированы в условиях лаборатории с использованием штаммов с заданными свойствами. В контексте целей оценки биологического действия факторов среды обитания человека консорциумы используются как тест-модели надклеточного (субпопуляционного) уровня. Воздействие осуществляется на консорциумы микроорганизмов как целостную биологическую единицу, при этом оценка проводится на основании популяционных биоиндикаторов и клеточных биомаркеров [4–6].

Цель работы – количественная оценка антимикробного потенциала неравновесной (низкотемпературной) воздушной плазменной струи (далее – плазма) в условиях экспериментального моделирования с использованием тест-моделей надклеточного (субпопуляционного) уровня – консорциумов микроорганизмов.

Материалы и методы. Моделирование биологических эффектов неравновесной плазмы проводили с использованием типовых штаммов условно-патогенных микроорганизмов из рабочей коллекции лаборатории изучения микробиоты объектов среды обитания человека и молекулярно-биологических исследований научно-исследовательского института гигиены, токсикологии, эпидемиологии, вирусологии и микробиологии государственного учреждения «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», а также изолятов, выделенных из объектов среды технологического окружения фармацевтических производств.

Использовали суточную культуру микроорганизмов, при этом штаммы бактерий отсеивали на недифференцированную плотную питательную среду и инкубировали при (35 ± 2) °C в течение 24 ч. В качестве питательной среды для бактерий использовали мясо-пептонный агар, который обладает высокими ростовыми свойствами, однородной консистенцией и умеренной интенсивностью окраски. Методом серийных разведений добивались требуемой концентрации клеток микроорганизмов.

Идентификацию видовой принадлежности изолятов проводили с помощью анализатора VITEK 2 compact [6, 7].

Неравновесная низкотемпературная плазма была получена в результате работы аппарата для генерации воздушной плазменной струи «Алоэ». Для оценки воздействия неравновесной плазмы в отношении микроорганизмов выполнено нанесение на поверхность чашек Петри с плотной питательной средой 0,1 мл суспензии микроорганизмов в концентрации 10^4 – 10^5 КОЕ/мл с ее равномерным распределением по поверхности среды. Чашки обрабатывали плазмой в замкнутом объеме в течение 5, 10 и 15 мин.

Для этого была использована керамическая воронка объемом 0,5 л, имеющая перегородку с равномерно распределенными отверстиями. Чашка Петри накрывалась воронкой, через которую равномерно подавался выхлоп плазменной струи, газ выходил из воронки через щели между столом и краем воронки. Режим и параметры обработки не изменялись на протяжении всех экспериментов. Обработанные плазмой чашки помещали в термостат и инкубировали при (37 ± 1) °C в течение 18–24 ч. По окончании инкубации проводили количественный учет сформированных колоний.

Для количественной оценки антимикробного действия был предложен показатель R, который рассчитывали по формуле (1):

$$R = \frac{N_0 - N_i}{N_0} \times 100 \%, \quad (1)$$

где R – показатель снижения количества микроорганизмов, %;

N_0 – количество колоний микроорганизмов на чашке Петри до обработки (контроль), КОЕ;

N_i – количество колоний микроорганизмов на чашке Петри после i минут обработки, КОЕ.

Результаты и их обсуждение. В эксперименте по изучению антимикробного потенциала неравновесной плазмы нами были использованы ассоциации бактерий (консорциумы). Консорциумы представляли собой как сконструированные в лабораторных условиях из типовых штаммов ассоциации, так и консорциумы, выделенные из объектов среды технологического окружения фармацевтических производств. Сконструированные консорциумы являлись двухкомпонентными и включали в себя грамположительный и грамотрицательный вид микроорганизмов.

Несмотря на то что при приготовлении тест-суспензии консорциума штаммы вносили в одинаковом соотношении и они не обладали антагонистическими свойствами в отношении друг друга, после культивирования на питательных средах отмечалось выраженное преобладание грамотрицательного компонента. Мы связываем это с более высокими темпами роста бактерий кишечной палочки и синегнойной палочки по сравнению с золотистым стафилококком и возможной конкуренцией за питательные вещества.

Результаты модельного эксперимента по изучению действия воздушной плазменной струи в отношении консорциумов микроорганизмов представлены в таблицах 1, 2.

Таблица 1 – Результаты инактивации сконструированных в лаборатории консорциумов воздушной плазменной струей в замкнутом объеме

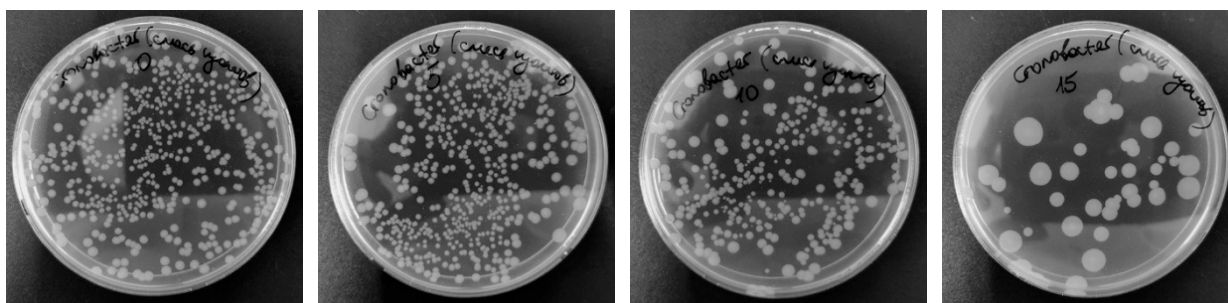
Микроорганизм	0 мин	5 мин		10 мин		15 мин	
	КОЕ/мл	КОЕ/мл	R, %	КОЕ/мл	R, %	КОЕ/мл	R, %
<i>E. coli</i> ATCC 11229 + <i>S. aureus</i> ATCC 6538	$3,2 \times 10^4 \pm 1,2 \times 10^2$	$1,9 \times 10^4 \pm 1,7 \times 10^2$	40,6	$1,3 \times 10^4 \pm 1,5 \times 10^2$	59,4	$4,5 \times 10^3 \pm 5,5 \times 10^1$	85,9
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442 + <i>S. aureus</i> ATCC 6538	$6,9 \times 10^4 \pm 1,3 \times 10^2$	$1,5 \times 10^4 \pm 9,4 \times 10^1$	78,3	$8,9 \times 10^3 \pm 7,2 \times 10^1$	87,1	$1,5 \times 10^3 \pm 4,7 \times 10^1$	97,8

Таблица 2 – Результаты инактивации природных консорциумов микроорганизмов воздушной плазменной струей в замкнутом объеме

Микроорганизм	0 мин	5 мин		10 мин		15 мин	
	КОЕ/мл	КОЕ/мл	R, %	КОЕ/мл	R, %	КОЕ/мл	R, %
Смесь микроорганизмов рода <i>Cronobacter</i> (источник выделения – фармацевтическое производство)	$5,8 \times 10^3 \pm 5,6 \times 10^1$	$5,3 \times 10^3$	8,6	$3,0 \times 10^3 \pm 3,9 \times 10^1$	48,3	$4,6 \times 10^2 \pm 6,0 \times 10^1$	92,1
<i>S. paucimobilis</i> + <i>K. Kristinae</i> (источник выделения – фармацевтическое производство)	$1,9 \times 10^3 \pm 7,0 \times 10^1$	$1,9 \times 10^3$	0,	$1,9 \times 10^3 \pm 6,2 \times 10^1$	0,0	$1,7 \times 10^3 \pm 5,4 \times 10^1$	10,5

В результате проведенных исследований установлено, что консорциумы микроорганизмов, состоящие из типовых штаммов *S. aureus* ATCC 6538, *E. coli* ATCC 11229 и *P. aeruginosa* ATCC 15442, являются чувствительными к воздействию плазмы. В первую очередь это обусловлено гибелью грамположительных бактерий, входящих в состав консорциума. При сравнении результатов, полученных для консорциума *E. coli* ATCC 11229 + *S. aureus* ATCC 6538 и консорциума *P. aeruginosa* ATCC 15442 + *S. aureus* ATCC 6538 последний демонстрировал более высокую чувствительность к плазменной обработке. Экспозиция в течение 15 мин приводила к инактивации 78,3–97,8 % клеток бактерий.

Выделенный при мониторинге объектов внутренней среды фармацевтического производства консорциум из штаммов бактерий рода *Cronobacter* также демонстрировал хорошую восприимчивость к плазменной обработке – после 15 мин экспозиции наблюдалась инактивация более 90 % клеток бактерий (рисунок 1).



А – контроль – смесь микроорганизмов рода *Cronobacter*

Б – смесь микроорганизмов рода *Cronobacter* после воздействия в течение 5 минут

В – смесь микроорганизмов рода *Cronobacter* после воздействия в течение 10 минут

Г – смесь микроорганизмов рода *Cronobacter* после воздействия в течение 15 минут

Рисунок 1 – Чашки Петри с консорциумами микроорганизмов при воздействии воздушной плазменной струи в замкнутом объеме

В то же время для консорциума из бактерий видов *S. paucimobilis* и *K. kristinae*, выделенного при мониторинге объектов технологической среды фармацевтических производств, не удалось добиться выраженной гибели бактерий даже после 15 мин непрерывной обработки. Отмечалось лишь незначительное снижение количества сформированных колоний на чашках Петри. Данный консорциум был выделен при микробиологическом мониторинге на фармацевтическом производстве и обладал способностью сохранять жизнеспособность в спиртосодержащем дезинфицирующем средстве (с содержанием этанола > 60 %).

Таким образом, консорциум бактерий видов *S. paucimobilis* и *K. kristinae* обладал выраженной устойчивостью не только к физическим, но и к химическим факторам среды.

Заключение. В результате экспериментальной оценки антимикробного потенциала неравновесной плазмы в условиях моделирования *in vitro* установлено, что природные консорциумы, выделенные из объектов среды технологического окружения фармацевтических производств, демонстрировали более высокую устойчивость к плазменной обработке. Экспозиция в течение 15 мин приводила к инактивации лишь 10,5 % консорциума, состоящего из *S. paucimobilis* и *K. kristinae*.

Сведения о НИР. НИР «Обосновать методологию и разработать тест-модели на базе монокультур и консорциумов микроорганизмов для изучения биологического действия неравновесной плазмы» ГПНИ «Конвергенция-2025», регистрационный номер 20211988.

Литература

1. Дудчик, Н. В. Тест-модель и количественный критериальный показатель для оценки антимикробного потенциала наноматериалов, используемых для водоочистки и водоподготовки: обоснование и метрологическая оценка / Н. В. Дудчик, Е. В. Дроздова, С. И. Сычик // *Анализ риска здоровью*. – 2018. – № 3. – С. 104–111.
2. Дудчик, Н. В. Кинетические и культурально-морфологические особенности чувствительных культур микроорганизмов при токсическом воздействии / Н. В. Дудчик, В. П. Филонов, И. П. Щербинская // *Медицинский журнал*. – 2010. – № 3. – С. 143–145.
3. 1-Deaza and 3-deazapurines in the reaction of microbiological transglycosylation / I. A. Mikhailopulo, A. I. Zinchenko, S. B. Bokut [et al.] // *Biotechnology Letters*. – 1992. – Vol. 14, № 10. – P. 885–890.
4. Филонюк, В. А. Методология гигиенического регламентирования микробных препаратов и разработки методик выполнения измерений содержания микроорганизмов в воздухе рабочей зоны / В. А. Филонюк, В. В. Шевляков, Н. В. Дудчик. – Минск : БелНИИТ «Транстехника», 2018. – 263 с.
5. Мельникова, Л. А. Изучение эффективности различных методов дезобработки / Л. А. Мельникова, Н. В. Дудчик, Н. Д. Коломиец // *Хранение и переработка сельхозсырья*. – 2003. – № 8. – С. 98–99.
6. Kirillov, V. Differential diagnosis of follicular cancer and follicular adenoma using an expert system based on a set of qualitative signs of cell atypia / V. Kirillov, O. Emeljanova // *Analytical and Quantitative Cytology and Histology*. – 2011. – Vol. 33, № 5. – P. 253–264.
7. Rutala, W. A. Disinfection, sterilization and antisepsis: an overview / W. A. Rutala, D. J. Weber // *American Journal of Infection Control*. – 2016. – Vol. 44, № 5, suppl. – P. e1–e6. – DOI: 10.1016/j.ajic.2015.10.038.

Dudchik N. V., Emeliyanova O. A., Simonchik L. V.¹, Kazak A. V.¹, Dalhina N. A.

RESULTS OF SIMULATION ASSESSMENT OF ANTIMICROBIAL POTENTIAL OF NONE-EQUILIBRIUM PLASMA ON CONSORTIUMS OF MICROORGANISMS

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

¹ State Scientific Institution «B. I. Stepanov Institute of Physics of the National Academy of Sciences of Belarus», Minsk, Belarus

Quantitative assessment of antimicrobial potential of non-equilibrium (low-temperature) air plasma jet using test models of supracellular (subpopulation) level – consortia of microorganisms was carried out under in vitro experimental conditions. Higher resistance to plasma treatment of natural consortia was revealed in comparison with consortia constructed in laboratory conditions. The lowest R value was observed for the consortium of *Sphingomonas paucimobilis* and *Kocuria kristinae*, isolated during the monitoring of objects of technological environment of pharmaceutical production. Exposure for 15 minutes resulted in inactivation of only 10.5 % of the consortium consisting of *S. paucimobilis* and *K. kristinae*. It is shown that test models of supracellular (subpopulation) level – consortia of microorganisms are relevant models for evaluation of antimicrobial potential of physical factors.

Keywords: consortia, modeling, low-temperature plasma, antimicrobial action.

References

1. Dudchik N. V., Drozdova E. V., Sychik S. I. Test-model and quantitative rdds criterion index which are applied to estimate antimicrobic potential of nanomaterials used for water purification and treatment: substantiation and metrologic assessment. *Health Risk Anal.* 2018; 3: 104–11. (in Russian)
2. Dudchik N. V., Filonov V. P., Shcherbinskaja I. P. Kinetic and cultural-morphologic features of sensitive cultures of microorganisms at toxic influence. *Med J.* 2010; 3: 143–5. (in Russian)
3. Mikhailopulo I. A., Zinchenko A. I., Bokut S. B. et al. 1-Deaza and 3-deazapurines in the reaction of microbiological transglycosylation. *Biotechnol Lett.* 1992; 14(10): 885–90.
4. Filanyuk V. A., Shevlyakov V. V., Dudchik N. V. Methodology for hygienic regulation of microbial preparations and development of methods for measuring the content of microorganisms in the air of the working area. Minsk: BelNIIT «Transtekhnika»; 2018. (in Russian)
5. Melnikova L. A., Dudchik N. V., Kolomiets N. D. Studying the effectiveness of various dispreating methods. *Storage Process Farm Prod.* 2003; 8: 98–9. (in Russian)
6. Kirillov V., Emeliyanova O. Differential diagnosis of follicular cancer and follicular adenoma using an expert system based on a set of qualitative signs of cell atypia. *Anal Quant Cytol Histol.* 2011; 33(5): 253–64.
7. Rutala W.A., Weber D.J. Disinfection, sterilization, and antisepsis: an overview. *Am J Infect Control.* 2016; 44(5, Suppl.): e1–e6. DOI: 10.1016/j.ajic.2015.10.038.

e-mail для переписки: n_dudchik@mail.ru

Поступила 11.10.2024

УДК 614.872.5:625.42(476-25)

Кравцов А. В., Соловьева И. В., Баслык А. Ю., Арбузов И. В., Агеев Е. П.

ОЦЕНКА УРОВНЕЙ ОБЩЕЙ ВИБРАЦИИ, СОЗДАВАЕМЫХ МИНСКИМ МЕТРОПОЛИТЕНОМ, В ПОМЕЩЕНИЯХ ЖИЛЫХ И ОБЩЕСТВЕННЫХ ЗДАНИЙ

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. В жилых и общественных зданиях проведены исследования уровней вибро-ускорения общей вибрации, генерируемой движением поездов Минского метрополитена, которая является высокочастотной непостоянной широкополосной общей вибрацией с наиболее выраженными уровнями в октавных полосах частот 31,5 и 63 Гц по оси Z_0 . Эквивалентные уровни вибро-ускорения по оси Z_0 ортогональной системы координат на частотах 16, 31,5 и 63 Гц статистически

значимо выше в 1,13 раза и более, чем по горизонтальным осям. Определено, что максимальные уровни виброускорения общей вибрации на частоте 31,5 Гц по оси Z_o выше эквивалентных уровней виброускорения в 1,95 раза ($p < 0,01$). Установлено, что для целей гигиенической оценки общей вибрации от метрополитена в жилых и общественных зданиях следует использовать значения уровней виброускорения, полученные в точке 1,5 метра от несущей стены или колонны по оси Z_o .

Ключевые слова: общая вибрация, виброускорение, жилые и общественные помещения, метрополитен.

Введение. Многочисленными исследованиями разных авторов установлено влияние антропогенных факторов на заболеваемость населения [1, 2]. Виброакустические факторы являются неотъемлемой частью деятельности человека, который их производит и одновременно попадает под их же воздействие [3]. Вибрация в пределах городской территории менее выражена по сравнению с шумом, однако ее наличие в сочетании с другими факторами резко ухудшает условия проживания населения [1, 2]. Интенсивность воздействия вибрационного фактора зависит от удаленности источника, скорости его движения, времени суток, а также длительности проживания, возраста и состояния здоровья человека [2, 4]. Общая вибрация неблагоприятно влияет на сон, функциональное состояние центральной нервной и сердечно-сосудистой систем организма человека [2, 5].

В городских условиях основными источниками общей вибрации являются строительные площадки с размещенной на ней техникой и оборудованием, различные объекты, связанные с производством продукции, наземный городской рельсовый транспорт, железнодорожный транспорт и метрополитен [2–4]. Метрополитен является одним из основных видов городского пассажирского транспорта в городе Минске, пассажиропоток которого составляет до 300 миллионов в год. В общегородском объеме пассажирских перевозок г. Минска удельный вес метрополитена приближается к 40 % (около 800 тысяч человек в сутки), который с открытием новых станций, несомненно, увеличится [6].

Таким образом, изучение вибрационного воздействия от метрополитена является одним из важнейших элементов гигиенической оценки условий проживания, а последующий анализ накопленных данных представляет научный интерес и крайне необходим при принятии решений об обоснованности разрабатываемых профилактических мероприятий, направленных на снижение уровней общей вибрации, воздействующих на население [7].

Специалистами научно-исследовательского института гигиены, токсикологии, эпидемиологии, вирусологии и микробиологии государственного учреждения «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья» проведены инструментальные измерения уровней общей вибрации в эксплуатируемых жилых и общественных зданиях г. Минска, расположенных в непосредственной близости от тоннелей метрополитена.

Цель работы – провести оценку уровней общей вибрации, создаваемых Минским метрополитеном, на первых этажах в жилых и общественных зданиях.

Материалы и методы. Инструментальные измерения уровней общей вибрации проводились в жилых и общественных зданиях на первых этажах в 60 помещениях (120 точек). Точки измерений располагались в помещениях на расстоянии 1,5 и 3 метра от несущей стены или колонны. Система координат привязывалась к конструкции здания: вертикальная составляющая (Z_o) была перпендикулярна плоскости пола, горизонтальные составляющие (X_o , Y_o) совпадали с продольной и поперечной осями здания. Точки измерения находились в жилых и общественных зданиях, которые располагались на расстоянии 10–46 метров от тоннелей метрополитена, при этом фиксировались их конструктивные особенности (высота, материалы и технология строительства, год постройки).

Инструментальные измерения проводились в нормируемом диапазоне [8] октавных полос со среднегеометрическими частотами (далее – частоты): 2; 4; 8; 16; 31,5 и 63 Гц с временным интервалом усреднения эквивалентных уровней виброускорения 5 минут. Регистрировались эквивалентные и максимальные уровни виброускорения общей вибрации в измерительных точках помещений [9, 10]. Измерения проводились при использовании виброметра с вибропреобразователем в диапазонах измерения при номинальной чувствительности средства измерения (исходном значении виброускорения $a_o = 1 \times 10^{-6} \text{ м/с}^2$) 54–100 дБ с частотами 2, 4, 8 Гц и 56–110 дБ с частотами 16; 31,5 и 63 Гц. В точке измерений устанавливался стальной диск диаметром

80 мм и толщиной 40 мм, имеющий три точки опоры, к поверхности которого с помощью резьбового соединения крепился вибропреобразователь [8, 9]. Учитывая, что допустимые скорректированные уровни виброускорения в Республике Беларусь установлены при исходном значении виброускорения $a_0 = 3 \times 10^{-4} \text{ м/с}^2$ [8], производился перерасчет измеренных виброметром уровней.

Полученные в ходе исследований данные обрабатывались общепринятыми методами статистики с помощью программы Statistica 13 (лицензия № AXA811I525627ARCN2ACD-M). Результаты определения уровней виброускорения общей вибрации представлены в виде среднего арифметического значения и ошибки репрезентативности ($M \pm m$) при 95% доверительном интервале. Расчеты статистической значимости критериев проверки нулевой гипотезы на соответствие фактического распределения измеренных значений нормальному показали, что уровень статистической значимости (далее – p) для критерия Колмогорова – Смирнова составил $> 0,05$, что свидетельствует о распределении изучаемой выборки по нормальному типу, поэтому оценка различий между измеренными показателями осуществлялась по t -критерию Стьюдента. Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез была принята доверительная вероятность $p < 0,05$ [11].

Результаты и их обсуждение. Предварительная оценка мест проведения инструментальных измерений позволила определить возможные внешние источники фоновых уровней виброускорения общей вибрации, к которым относятся транспортный поток, состоящий из легковых автомобилей с единичными проездами грузового автотранспорта, автобусов, а также технологическое оборудование, непосредственно находящееся в здании.

Анализ полученных результатов показал, что общая вибрация в жилых и общественных зданиях является непостоянной широкополосной с непрерывным спектром действия более одной октавы. Наибольшие уровни виброускорения общей вибрации в зданиях отмечались в октавных полосах со среднегеометрическими частотами 8; 16; 31,5 и 63 Гц с максимумом энергии в высокочастотном диапазоне. Уровни виброускорений общей вибрации, формируемые движением поездов метрополитена, на частотах 2 и 4 Гц не отличались от фоновых уровней и в некоторых случаях находились ниже нижнего предела измерений используемых средств измерений.

Количественная оценка полученных в точках измерений эквивалентных уровней виброускорения общей вибрации в жилых и общественных зданиях указывает на более высокие показатели по оси Z_0 , чем по осям X_0 и Y_0 . На частотах 16 и 63 Гц по осям X_0 и Y_0 эквивалентные уровни виброускорения в 1,2 раза и более – статистически значимо ниже, чем по вертикальной оси измерений, при разнице на частоте 31,5 Гц в 1,13 раза анализируемого показателя по оси Y_0 и 1,23 – по оси X_0 . На частоте 8 Гц по оси Z_0 эквивалентные уровни виброускорения общей вибрации в жилых и общественных зданиях незначительно отличались от эквивалентных уровней горизонтальных осей.

Максимальные уровни виброускорения общей вибрации в жилых и общественных зданиях от поездов метрополитена за время проведения измерений по оси Z_0 на частотах 8 и 63 Гц были статистически значимо выше в 1,47 раза и в 1,68 раза, чем эквивалентные уровни виброускорения общей вибрации, на частоте 16 Гц – в 1,15 раза, при наибольших различиях (1,95 раза) на частоте 31,5 Гц.

Максимальные уровни виброускорения общей вибрации в жилых и общественных зданиях, создаваемые при движении поездов метрополитена, за время проведения измерений по оси Z_0 на частотах 8, 16 и 63 Гц регистрировались статистически значимо выше, чем эквивалентные уровни виброускорения в 1,47 раза, в 1,15 раза и в 1,68 раза соответственно. При этом наибольшие различия (в 1,95 раза) были отмечены на частоте 31,5 Гц. По осям X_0 и Y_0 на частотах 8 и 16 Гц максимальные уровни виброускорения общей вибрации незначительно отличались от эквивалентных уровней. Следует отметить, что наибольшие отличия максимальных уровней виброускорения общей вибрации в жилых и общественных зданиях от эквивалентных уровней виброускорения общей вибрации по горизонтальным осям X_0 и Y_0 измерений также выявлены на частоте 31,5 Гц, разница которых составляла 1,34 раза и 1,36 раза ($p = 0,03$), при менее выраженной разнице на частоте 63 Гц – в 1,11 раза и 1,24 раза при $p < 0,05$ соответственно (таблица 1).

Таблица 1 – Эквивалентные и максимальные уровни виброускорения общей вибрации в жилых и общественных зданиях, создаваемые движением поездов метрополитена, по осям X_o , Y_o , Z_o .

Ось ординат	Уровни виброускорения, дБ, в октавных полосах со среднегеометрическими частотами, Гц ($M \pm m$)							
	8 Гц		16 Гц		31,5 Гц		63 Гц	
	ЭУ	МУ	ЭУ	МУ	ЭУ	МУ	ЭУ	МУ
X_o	$6,3 \pm 0,1^3$	$6,7 \pm 0,2$	$9,0 \pm 0,2^3$	$9,2 \pm 0,2$	$10,4 \pm 0,3^3$	$13,9 \pm 0,3$	$12,5 \pm 0,4_3$	$13,9 \pm 0,4$
Y_o	$6,3 \pm 0,1^3$	$6,8 \pm 0,1$	$9,6 \pm 0,2^3$	$9,8 \pm 0,1$	$11,3 \pm 0,3^3$	$15,4 \pm 0,4$	$12,7 \pm 0,4_3$	$15,8 \pm 0,4$
Z_o	$6,6 \pm 0,1^3$	$9,7 \pm 0,2$	$11,5 \pm 0,6^{1,2,3}$	$13,2 \pm 0,3$	$12,8 \pm 0,3^{1,2,3}$	$25,0 \pm 0,6$	$15,1 \pm 0,5^{1,2,3}$	$25,3 \pm 0,7$

¹ статистически значимые отличия эквивалентных уровней виброускорения по оси Z_o от эквивалентных уровней виброускорения по осям X_o при $p < 0,05$;
² статистически значимые отличия эквивалентных уровней виброускорения по оси Z_o от эквивалентных уровней виброускорения по осям Y_o при $p < 0,05$;
³ статистически значимые отличия эквивалентных уровней виброускорения от максимальных уровней виброускорения при $p < 0,05$.
Примечание – ЭУ – эквивалентный уровень виброускорения, МУ – максимальные уровни виброускорения

При оценке измеренных эквивалентных уровней виброускорения общей вибрации в жилых и общественных зданиях, создаваемых при движении поездов метрополитена, на первых этажах в точке 1,5 метра по осям X_o , Y_o , Z_o на частоте 8 Гц незначительно отличались от показателей в точке 3 метра. На частоте 16 Гц по осям X_o , Y_o разница уровней виброускорения, измеренных в точках 1,5 и 3 метра, находилась в пределах погрешности измерений, по оси Z_o в точке 1,5 метра оцениваемые показатели общей вибрации были выше на $(58,4 \pm 3,6) \%$ ($p < 0,01$), чем в точке 3 метра $(8,9 \pm 0,3)$ дБ. На частотах 31,5 и 63 Гц эквивалентные уровни виброускорения общей вибрации в жилых и общественных зданиях по оси Z_o в точке 1,5 метра – выше на $(21,7 \pm 5,3) \%$ ($p < 0,01$) и $(37,7 \pm 6,3) \%$ ($p < 0,01$) соответственно, чем в точке на расстоянии 3 метра от несущей конструкции. На частоте 31,5 Гц по оси Y_o в точке 1,5 метра уровни виброускорения – ниже на $(12,1 \pm 4,2) \%$ ($p < 0,01$), чем в точке 3 метра, при незначительных различиях по оси X_o . Кроме того, различия между показателями в точках 1,5 и 3 метра от несущих конструкций на частоте 63 Гц не выявлены.

Максимальные уровни виброускорения общей вибрации в жилых и общественных зданиях в точке 1,5 метра на частотах 8 и 16 Гц незначительно отличались от уровней виброускорения в точке 3 метра. При этом на частоте 31,5 Гц по оси X_o в 3-х метрах от несущих конструкций максимальный уровень виброускорения – статистически значимо выше на $(10,6 \pm 2,8) \%$, чем в точке на 1,5 метра $(13,2 \pm 0,5)$ дБ; по оси Y_o в исследуемых точках уровни были сопоставимы, на оси Z_o в точке 1,5 метра – ниже на $(13,2 \pm 3,1) \%$, чем в точке 3 метра ($p = 0,04$), при незначительных отличиях показателей на частоте 63 Гц по осям Y_o , Z_o в точке 1,5 метра от значений в точке 3 метра. По оси X_o в точке на расстоянии 3 метра максимальные уровни виброускорения общей вибрации – на $(16,3 \pm 3,4) \%$ статистически значимо выше ($p = 0,04$), чем в точке 1,5 метра (таблица 2).

Таблица 2 – Эквивалентные и максимальные уровни виброускорения общей вибрации в жилых и общественных зданиях, создаваемые движением поездов метрополитена, по осям X_o , Y_o , Z_o в точках, расположенных на перпендикуляре в 1,5 и 3 метрах от ближайшей несущей конструкции жилых и общественных зданий

Точка измерений	Ось ординат	Уровни виброускорения, дБ, в октавных полосах со среднегеометрическими частотами, Гц ($M \pm m$)							
		8 Гц		16 Гц		31,5 Гц		63 Гц	
		ЭУ	МУ	ЭУ	МУ	ЭУ	МУ	ЭУ	МУ
1,5 метра	X_o	$6,1 \pm 0,2$	$7,0 \pm 0,2$	$9,2 \pm 0,4$	$9,4 \pm 0,4$	$10,0 \pm 0,4$	$13,2 \pm 0,5^*$	$12,5 \pm 0,6$	$12,9 \pm 0,6^*$
	Y_o	$6,0 \pm 0,2$	$7,0 \pm 0,2$	$9,5 \pm 0,3$	$9,7 \pm 0,2$	$10,7 \pm 0,4^*$	$15,2 \pm 0,6$	$12,9 \pm 0,6$	$15,9 \pm 0,7$
	Z_o	$6,4 \pm 0,2$	$9,5 \pm 0,3$	$14,1 \pm 1,1^*$	$14,7 \pm 0,3$	$14,0 \pm 0,4^*$	$23,4 \pm 0,8^*$	$17,5 \pm 0,5^*$	$25,2 \pm 0,9$
3 метра	X_o	$6,4 \pm 0,2$	$6,4 \pm 0,2$	$8,9 \pm 0,3$	$8,9 \pm 0,4$	$10,8 \pm 0,5$	$14,6 \pm 0,5$	$12,5 \pm 0,5$	$15,0 \pm 0,6$
	Y_o	$6,5 \pm 0,2$	$6,6 \pm 0,2$	$9,7 \pm 0,3$	$9,8 \pm 0,2$	$12,0 \pm 0,5$	$15,6 \pm 0,6$	$12,6 \pm 0,5$	$15,7 \pm 0,7$
	Z_o	$6,9 \pm 0,2$	$9,8 \pm 0,2$	$8,9 \pm 0,3$	$11,6 \pm 0,5$	$11,5 \pm 0,5$	$26,5 \pm 0,9$	$12,7 \pm 0,6$	$25,5 \pm 1,2$

* статистически значимые отличия уровней виброускорения в точке 1,5 метра от уровней виброускорения в точке 3 метра при $p < 0,05$.
Примечания:
1) ЭУ – эквивалентный уровень виброускорения;
2) МУ – максимальный уровень виброускорения.

Заключение. Таким образом, в жилых и общественных зданиях общая вибрация, генерируемая движением поездов Минского метрополитена, по качественным и количественным показателям является высокочастотной непостоянной широкополосной с наибольшими уровнями и различиями их с фоновыми в октавных полосах частот 31,5 и 63 Гц по оси Z_o . Учитывая разностные значения показателей между уровнями в точках исследований, а также выявленное преобладание уровней виброускорения по вертикальной оси ординат над горизонтальными направлениями, для целей гигиенической оценки общей вибрации от метрополитена в жилых и общественных зданиях предпочтительными являются измерения в точках, расположенных на расстоянии 1,5 метра от несущих конструкций, при этом акцентировать внимание следует на результатах измерений по оси Z_o ортогональной системы координат.

Сведения о НИР. НИР «Разработать и внедрить методику измерения общей вибрации в условиях проживания населения» подпрограммы «Безопасность среды обитания человека» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», 2021–2025 гг., регистрационный номер 20221304.

Литература

1. Гигиеническая оценка акустической и вибрационной нагрузки территорий населенных мест на основе интегрального (одночислового) показателя / И. П. Щербинская, С. С. Худницкий, И. В. Соловьева [и др.] // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Респ. науч.-практ. центр гигиены, Белорус. науч. о-во гигиенистов ; редкол.: В. П. Филонов [и др.]. – Минск, 2010. – Вып. 15. – С. 221–224.

2. Шабарова, А. В. Оценка воздействия рельсового транспорта на территории жилой застройки / А. В. Шабарова, Д. А. Куклин, М. В. Буторина // Защита от повышенного шума и вибрации : сб. докл. VI Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, Санкт-Петербург, 21–23 марта 2017 г. – СПб., 2017. – С. 441–447.

3. Гендлер, С. Г. Особенности оценки и нормализации шума и вибрации при строительстве и эксплуатации Санкт-Петербургского метрополитена / С. Г. Гендлер, Р. В. Введенский, М. В. Могильный, Л. В. Рыжова // Защита от повышенного шума и вибрации : сб. докладов V Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, Санкт-Петербург, 18–20 марта 2015 г. / под ред. Н. И. Иванова. – СПб., 2015. – С. 378–389.

4. Tsukernikov, I. E. Choice of a controlled parameter when assessing underground train passing vibration in building / I. E. Tsukernikov, S. A. Kostarev, I. A. Nekrasov // Transport noise and vibration : proced. of the 5-th Intern. I Symp., St. Petersburg. – St. Petersburg, 2000. – P. 2–8.

5. Исследование сочетанного влияния шума и вибрации в условиях проживания на функциональное состояние организма / Н. П. Быкова, И. П. Щербинская, И. В. Соловьева [и др.] // Современные проблемы гигиены, радиационной и экологической медицины : сб. науч. ст. / Гродн. гос. мед. ун-т ; редкол.: И. А. Наумов (гл. ред.) [и др.]. – Гродно, 2014. – Вып. 4. – С. 23–25.

6. О метрополитене. – URL: https://metropoliten.by/o_metropolitene (дата обращения: 31.07.2024).

7. Дроздова, Е. В. Медико-экологические риски в контексте устойчивого развития / Е. В. Дроздова // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены ; редкол.: С. И. Сычик (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2019. – Вып. 29. – С. 168–177.

8. Показатели безопасности и безвредности вибрационного воздействия на человека : гигиен. норматив : утв. постановлением Совета Министров Респ. Беларусь от 25.01.2021 № 37. – С. 259–273 // Национальный правовой портал Республики Беларусь. – URL: <https://pravo.by/document/?guid=12551&p0=C22100037&p1=1> (дата обращения: 02.09.2024).

9. Исследование количественных показателей общей вибрации, обусловленной движением поездов метрополитена мелкого заложения, в жилых и административных зданиях г. Минска / И. В. Соловьева [и др.] // Инновационные подходы в решении санитарно-гигиенических и медико-биологических проблем здоровья населения, посвященной 90-летию Института : сб. докладов респ. науч.-практ. конф., Ташкент, 16 июля 2024 г. – С. 172–172.

10. Кравцов, А. В. Вибрационная обстановка на первых этажах жилых и общественных зданий г. Минска при движении железнодорожного транспорта / А. В. Кравцов, И. В. Соловьева, И. В. Арбузов // Medical Review. – 2024. – Т. 8. – С. 124–125.

11. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О. Ю. Реброва. – М. : Медиасфера, 2002. – 312 с.

**ASSESSMENT OF GENERAL VIBRATION LEVELS CREATED BY THE MINSK METRO
IN THE PREMISES OF RESIDENTIAL AND PUBLIC BUILDINGS**

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

In residential and public buildings there were investigated the levels of vibration acceleration of general vibration generated by train traffic of Minsk subway, which is a high-frequency non-permanent broadband general vibration with the most pronounced levels in the octave frequency bands of 31.5 and 63 Hz along the Z_0 axis. Equivalent levels of vibration acceleration along the Z_0 axis of the orthogonal coordinate system at frequencies 16, 31.5 and 63 Hz are statistically significantly higher by 1.13 times and more than along the horizontal axes. It was determined that the maximum vibration acceleration levels of general vibration at 31.5 Hz on the Z_0 axis are 1.95 times higher than the equivalent vibration acceleration levels ($p < 0.01$). It was determined that for the purposes of hygienic assessment of general vibration from the subway in residential and public buildings should be used values of vibration acceleration levels obtained at a point 1.5 meters from the bearing wall or column on the axis Z_0 .

Keywords: general vibration, vibration acceleration, residential and public premises, subway.

References

1. Shcherbinskaya I. P., Hudnickij S. S., Solov'eva I. V. et al. Hygienic assessment of acoustic and vibration loads of populated areas based on an integral (single-digit) indicator. In: Filonov V. P., chief ed. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda (Health and environment)*: Sb. nauch. trudov. Iss. 15. Minsk; 2010: 221–3. (in Russian)

2. Shabarova A. V., Kuklin D. A., Butorina M. V. Assessment of the impact of rail transport on residential areas. In: *Zashchita ot povyshennogo shuma i vibracii (Protection from increased noise and vibration)*: Sb. dokladov VI Vseroc. nauch.-prakt. konf. s mezhdunar. uchastiem, Sankt-Peterburg, 21–23 marta 2017 g. SPb.; 2017: 441–7. (in Russian)

3. Gendler S. G., Vvedenskij R. V., Mogil'nyj M. V., Ryzhova L. V. Features of assessment and normalization of noise and vibration during construction and operation of the St. Petersburg metro. In: Ivanov N. I., ed. *Zashchita ot povyshennogo shuma i vibracii (Protection from increased noise and vibration)*: Sb. dokladov V Vseroc. nauch.-prakt. konf. s mezhdunar. uchastiem, Sankt-Peterburg, 18–20 marta 2015 g. SPb.; 2015: 378–89. (in Russian)

4. Tsukernikov I. E. Choice of a controlled parameter when assessing underground train passing vibration in building. In: *Transport noise and vibration*: procced. of the 5-th Intern. I Symp., St. Petersburg. SPb.; 2000: 2–8.

5. Bykova N. P., Shcherbinskaya I. P., Solov'eva I. V. et al. Study of the combined influence of noise and vibration in living conditions on the functional state of the body. In: Naumov I. A., chief ed. *Sovremennyye problemy gigieny, radiacionnoj i ekologicheskoy mediciny (Modern problems of hygiene, radiation and environmental medicine)*: sb. nauch. st. Iss. 4. Grodno; 2014: 23–5. (in Russian)

6. About the metro. Available at: https://metropoliten.by/o_metropolitene (date of access: 31.07.2024). (in Russian)

7. Drozdova E. V. Medical-ecological risks in the context of sustainable development. In: Sychik S. I., chief ed. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda (Health and environment)*: Sb. nauch. trudov. Iss. 29. Minsk; 2019: 168–77. (in Russian)

8. Indicators of safety and harmlessness of vibration impact on humans: higien. normativ: utv. postanovleniem Soveta Ministrov Respubliki Belarus' ot 25.01.2021 № 37. In: Pravo.by: Nacional'nyj pravovoj portal Respubliki Belarus'. Available at: <https://pravo.by/document/?guid=12551&p0=C22100037&p1=1> (date of access: 02.09.2024). (in Russian)

9. Solov'eva I. V. Study of quantitative indicators of general vibration caused by the movement of shallow-level subway trains in residential and administrative buildings of Minsk. In: *Innovacionnye podhody v reshenii sanitarno-gigienicheskikh i mediko-biologicheskikh problem zdorov'ya naseleniya, posvyashchennoj 90-letiyu Instituta (Innovative approaches to solving sanitary-hygienic and medical-biological problems of public health, dedicated to the 90th anniversary of the Institute)*: Sb. dokladov resp. nauch.-prakt. konf., Tashkent, 16 iyulya 2024 g. 172–2. (in Russian)

10. Kravcov A. V. Vibration conditions on the ground floors of residential and public buildings in Minsk during the movement of railway transport. *Med Rev.* 2024; 8: 124–5. (in Russian)

11. Rebrova O. Ju. Statistical analysis of medical data. Using the Statistica software package. Moscow: Mediasfera; 2002. (in Russian)

e-mail для переписки: physical.factors@rspch.by

Поступила 02.10.2024

Соловьева И. В., Баслык А. Ю., Кравцов А. В., Арбузов И. В., Агеев Е. П.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ШУМА, СОЗДАВАЕМОГО ПРИ ДВИЖЕНИИ ПАССАЖИРСКИХ ПОЕЗДОВ РЕГИОНАЛЬНЫХ И МЕЖРЕГИОНАЛЬНЫХ ЛИНИЙ БЕЛОРУССКОЙ ЖЕЛЕЗНОЙ ДОРОГИ

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Проведены исследования шумовых характеристик в 25 м от оси ближнего магистрального железнодорожного пути (базовая точка), а также уровней звука и звукового давления пассажирских поездов региональных и межрегиональных линий эконом- и бизнес-классов на удалении 125 м и 175 м от железной дороги. Эквивалентные уровни звука с учетом неопределенности измерений в базовых точках составили 74,4 дБА от поездов эконом-класса, 72,5 дБА от поездов бизнес-класса, на расстоянии 125 м от железной дороги – 62,4 и 59,8 дБА соответственно, на расстоянии 175 м от железной дороги – 59,0 и 54,3 дБА соответственно. Показано, что пассажирские поезда эконом-класса вносят статистически значимо больший вклад в формирование акустической ситуации на прилегающих территориях, чем поезда бизнес-класса.

Ключевые слова: шум, уровень звукового давления, пассажирский поезд, железная дорога.

Введение. Акустическая обстановка на территории жилой застройки крупных населенных пунктов является одним из ведущих антропогенных факторов окружающей среды, оказывающим негативное влияние на здоровье населения [1, 2].

По потреблению энергии и топлива, занимаемым инфраструктурой площадям, производству углекислого газа и шумовому воздействию железнодорожные перевозки по сравнению с автомобильными и авиационными являются наиболее безвредным видом транспорта [1, 3, 4]. Однако именно шум рассматривается как одна из важнейших экологических проблем в железнодорожной сфере [3]. К примеру, доля населения, которая в дневное время подвергается воздействию сверхнормативного железнодорожного шума внутри и за пределами агломераций в центральноевропейском регионе достигает 9,3 % [5–7].

Акустическая обстановка на территориях, расположенных в зоне влияния железнодорожного транспорта, может существенно варьировать в зависимости от множества факторов, таких как скорость и интенсивность движения поездов, состав железнодорожного транспортного потока, тип и состояние железнодорожных магистралей, наличие естественных и искусственных экранирующих объектов, климатические и метеорологические условия. Уровень шума значительно различается в зависимости от состава железнодорожного потока. Грузовые поезда, как правило, являются преобладающим источником шума на железной дороге, поскольку уровень шума от грузовых поездов примерно на 10 дБА выше, чем от пассажирских, при этом расписание следования грузовых поездов часто формируется с учетом движения в ночное время, когда население более восприимчиво к воздействию шума [7, 8]. Однако при большой интенсивности движения пассажирских поездов, отличающихся высокой скоростью движения, данный тип железнодорожного транспорта также может вносить существенный, а на некоторых участках железной дороги и основной вклад в формирование акустической ситуации на прилегающих территориях.

С целью учета вклада разных видов поездов в суммарную шумовую характеристику железнодорожного потока межгосударственным стандартом ГОСТ 20444-2014 «Шум. Транспортные потоки. Методы определения шумовой характеристики» (далее – ГОСТ 20444) предписано, что временной интервал наблюдения при измерениях уровней шума потока железнодорожного транспорта должен охватывать проезд мимо точки измерения не менее пяти поездов каждого вида (пассажирские, грузовые, пригородные электропоезда).

В настоящее время Белорусской железной дорогой для перевозки пассажиров организовано несколько типов сообщений (линий): городские, региональные, межрегиональные, международные и коммерческие, на которых используются соответствующие типы поездов. Городские линии осуществляют перевозки пассажиров в пределах г. Минска, областного центра и за их пределы, но не далее железнодорожных станций (остановочных пунктов), расположенных в городах-спутниках (Заславль, Смолевичи, Руденск и Дзержинск). Региональные линии курсируют в пределах административных

границ области и за ее пределы до железнодорожных станций (остановочных пунктов), расположенных в ближайшем городе областного подчинения смежной области, но не далее ее областного центра. Межрегиональные линии позволяют выполнять пассажирские перевозки между г. Минском и областными центрами, а также между областными центрами. По международным линиям осуществляются перевозки пассажиров между Республикой Беларусь и другими государствами. Коммерческие линии (специальные туристические поезда) выполняют перевозки по маршрутам, определенным заказчиком (юридическим или физическим лицом) на договорных условиях. Региональные и межрегиональные линии в зависимости от вида поездов, скорости их движения и остановок в населенных пунктах подразделяются на бизнес-класс и эконом-класс. Поезда региональных линий эконом-класса – это поезда, включающие традиционные «электрички» (электропоезда рижские, 9-й тип (ЭР9)) и дизель-поезда (ДР1, ДРБ1 (дизель-поезда рижские для Белорусской железной дороги, 1-й тип), ДДБ1 (дизель-поезд демиховский для Белорусской железной дороги, 1-й тип) и т. п.), которые делают много остановок и движутся с относительно невысокой скоростью. Поезда межрегиональных линий эконом-класса – пассажирские поезда местного сообщения таких же типов, которые соединяют областные центры и делают остановки в населенных пунктах, где проживают более 10 тысяч человек. К поездам бизнес-класса относятся пассажирские составы региональных (в том числе городских), межрегиональных и международных линий и в настоящее время формируются современными высокоскоростными электро- и дизель-поездами типа ДП1, ДП3, ДП6 (1-, 3- и 6-вагонные дизель-поезда, производства «PESA Bydgoszcz SA»), ЭПг, ЭПр, ЭПм (4-, 5-, и 7-вагонные электропоезда, производства Stadler Rail AG) и подобными [9].

Учитывая современные типы пассажирских сообщений, категории линий и многообразие применяемых на них видов (типов) поездов, представляется актуальным изучение шумовых характеристик большего количества групп пассажирских поездов, чем определено действующей редакцией ГОСТ 20444. При этом с учетом действующей в Республике Беларусь номенклатуры пассажирского железнодорожного сообщения в первую очередь требует актуализации группа поездов, названная ГОСТ 20444 как «пригородные электропоезда».

Цель работы – изучение шумовых характеристик пассажирских поездов разных типов региональных и межрегиональных линий Белорусской железной дороги, а также исследование акустической ситуации, формируемой при движении данной группы поездов, на границах населенных пунктов, прилегающих к железнодорожным магистралям республики.

Материалы и методы. Исследования основных (эквивалентных L_{Aeq} и максимальных L_{Amax} уровней звука, дБА) и дополнительных (эквивалентных уровней звукового давления, L_{eq} дБ, в октавных полосах со среднегеометрическими частотами в диапазоне от 31,5 до 8000 Гц по ГОСТ 12090-80 «Частоты для акустических измерений. Предпочтительные ряды») шумовых характеристик пассажирских поездов в точках на границах населенных пунктов проведены с учетом требований ГОСТ 20444. Измерения шумовых характеристик пассажирских поездов проводились в базовой точке, расположенной на расстоянии $(25 \pm 0,5)$ м от оси ближнего магистрального железнодорожного пути. С целью изучения специфики распространения шума, создаваемого при движении пассажирских поездов, вглубь территории населенного пункта установлены 2 опорные точки измерений: точка № 1 на расстоянии 100 м от базовой точки, точка № 2 на расстоянии 150 м от базовой точки. Измерения шумовых характеристик пассажирских поездов в базовой и опорных точках проводились одновременно. Измерения в опорных точках проведены с учетом требований ГОСТ 23337-2014 «Шум. Методы измерения шума на селитебной территории и в помещениях жилых и общественных зданий» (далее – ГОСТ 23337). При выборе точек измерений на границах населенных пунктов, прилегающих к железнодорожным магистралям, предпочтение отдавалось опорным точкам, при выборе которых исключались препятствия, в том числе естественные (возвышения местности, зеленые насаждения и т. п.), экранирующие распространение железнодорожного шума и ограничивающие прямую видимость железной дороги [10].

Ввиду относительно невысокой интенсивности движения пассажирских поездов по железнодорожным магистралям республики в рамках исследования измерялись и фиксировались эквивалентные уровни звукового давления в октавных полосах со среднегеометрическими частотами в диапазоне от 31,5 до 8000 Гц, а также эквивалентные и максимальные уровни звука, создаваемые при проезде каждого пассажирского поезда мимо измерительной точки. В периоды времени, когда движение поездов отсутствовало, измерялись уровни фонового шума, т. е. уровни звука и звукового давления помех, создаваемых посторонними источниками шума в период измерения. Измерения железнодорожного шума выполнялись в дневной период времени.

Одновременно с измерением уровней шума определялись скорость движения (V) и время, охватывающее проезд каждого пассажирского поезда мимо базовой точки (временной интервал измерения T , с). Скорость движения пассажирских поездов определялась путем фиксирования времени проезда t_i отдельным пассажирским поездом i -участка дороги длиной ℓ и последующего расчета по этим данным скорости движения каждого поезда по формуле, приведенной в ГОСТ 20444.

В рамках исследования на основании анализа расписания движения поездов проведено изучение интенсивности движения (количество пассажирских поездов, проходящих через поперечное сечение исследуемого участка железной дороги в обоих направлениях в единицу времени) и состава пассажирских поездов, курсирующих по участкам железной дороги, на которых планировалось разместить базовые точки. При анализе учитывались типы сообщений (городские, региональные, межрегиональные и международные линии), категории пассажирских линий, характерные для исследуемого участка железной дороги (эконом- или бизнес-класс).

Учитывая положения ГОСТ 20444 и технические характеристики основных видов (типов) поездов, применяемых для перевозки пассажиров в Республике Беларусь, измерения и последующая оценка уровней шума проведена для следующих групп пассажирского железнодорожного транспорта:

- поезда региональных (в том числе городских) и межрегиональных линий бизнес-класса (типа ДП1, ДПЗ, ДП6, ЭПг, ЭПр, ЭПм и подобные);
- поезда региональных и межрегиональных линий эконом-класса (типа ЭР9, ДР1, ДРБ1, ДДБ1 и т. п.).

При измерениях применялись интегрирующие шумомеры-анализаторы спектра 1-го класса по ГОСТ 17187-2010 (IEC 61672-1:2002) «Шумомеры. Часть 1. Технические требования», в составе которых применялись соответствующие акустические калибраторы; оборудование для контроля параметров воздушной среды (атмосферного давления, относительной влажности воздуха, температуры воздуха, скорости ветра); электронные секундомеры; средства измерений линейных расстояний (лазерный дальномер и рулетки).

Перед началом измерений и после их окончания проводилась калибровка шумомеров (в редакции ГОСТ 23337, действующей в Республике Беларусь после 01.09.2023 – проверка чувствительности). При подаче калибровочного сигнала показания фильтра шумомера, соответствующего частоте калибровки, до и после измерения шума во всех случаях, совпадали с калибровочным уровнем в пределах $\pm 0,3$ дБ [11].

Результаты определения эквивалентных уровней звука и звукового давления представлены в виде среднего арифметического значения с учетом расширенной неопределенности измерений (U), расчет которой выполнялся согласно ГОСТ 20444 и ГОСТ 23337 (при уровне доверия $N = 95$ %). Т. к. для максимальных уровней звука расширенная неопределенность согласно ГОСТ 20444 и ГОСТ 23337 не рассчитывалась, в публикации значения данного показателя представлены в виде среднего арифметического значения и ошибки репрезентативности ($M \pm m$) при 95% доверительном интервале.

Полученные в ходе исследований данные обрабатывались общепринятыми методами статистики пакета прикладной компьютерной программы Statistica 13 (лицензия № AXA811I525627ARCN2ACD-M). При обработке результатов исследования уровень статистической значимости (далее – p) для критериев Колмогорова – Смирнова, Колмогорова – Смирнова с поправкой Лиллиефорса и Шапиро – Уилка указал, что фактическое распределение измеренных значений соответствует нормальному, поэтому при оценке различий между группами сравнения использовался параметрический t -критерий Стьюдента. Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез был принят критерий доверительной вероятности $p < 0,05$ [12].

Результаты и их обсуждение. В рамках исследований в 2022–2023 гг. проведены измерения шумовых характеристик пассажирских поездов региональных и межрегиональных линий в 30 базовых точках, расположенных на участках Белорусской железной дороги с наиболее интенсивным движением пассажирских поездов по направлениям из города Минска в города Молодечно, Крупки, Барановичи и Жлобин.

Уровни звука помех, создаваемых посторонними источниками в период измерения шума (фоновые (остаточные) уровни), во всех базовых и опорных точках были более чем на 10 дБ (дБА) ниже уровней звука и звукового давления шума, создаваемого при прохождении пассажирских поездов мимо точек измерения.

Среднее время прохождения пассажирских поездов бизнес-класса мимо базовых точек составило ($2,9 \pm 0,2$) секунды, пассажирских поездов эконом-класса – ($9,4 \pm 1,0$) секунды.

Сравнение результатов исследования основных шумовых характеристик при движении поездов регионального и межрегионального сообщения в зависимости от класса пассажирских линий, приведенных в таблице 1, показало отсутствие статистических значимых отличий между эквивалентными и максимальными уровнями звука, создаваемыми при проезде мимо базовых точек пассажирских поездов эконом- и бизнес-классов.

Таблица 1 – Результаты измерений уровней звука и звукового давления шума, создаваемого при проезде пассажирских поездов эконом- и бизнес-классов, мимо точек измерения

Наименование измерительной точки	Группа поездов по категориям пассажирских линий (класс)	Эквивалентные уровни звукового давления, дБ, в октавных полосах со среднегеометрическими частотами, Гц (M + U)									Уровни звука, дБА	
		31,5	63	125	250	500	1000	2000	4000	8000	эквивалентные (M + U)	максимальные (M ± m)
Базовая	эконом	69,5	69,0	66,3	65,2	70,1	69,6	68,5	62,8	54,3	74,4	80,9 ± 0,9
	бизнес	69,2	72,0	67,5	61,8	68,3	68,1	66,4	60,0	53,7	72,5	78,9 ± 1,3
Опорная № 1	эконом	63,8 *	61,5	56,0	52,7*	57,1 *	57,8	56,5	49,7	38,8	62,4	68,5 ± 1,0
	бизнес	59,0	59,6	54,5	48,8	52,7	54,9	54,6	46,8	40,2	59,8	66,5 ± 0,9
Опорная № 2	эконом	59,9**	58,4	51,9	48,7**	54,2**	54,4**	53,4**	45,4	34,2	59,0**	65,4 ± 1,1**
	бизнес	56,5	56,4	49,1	43,9	48,5	48,5	49,1	42,7	33,6	54,3	60,8 ± 1,1

* статистически значимые различия между эквивалентными уровнями звукового давления, создаваемыми сравниваемыми группами поездов в опорной точке № 1 (p < 0,05);

** статистически значимые различия между уровнями звука и эквивалентными уровнями звукового давления, создаваемыми сравниваемыми группами поездов в опорной точке № 2 (p < 0,05).

Анализ результатов исследования распространения шума, создаваемого при движении пассажирских поездов регионального и межрегионального сообщения вглубь территорий населенных пунктов, показал, что на расстоянии 125 м от условного акустического центра потока железнодорожного транспорта, которым является ось ближнего к измерительной точке магистрального железнодорожного пути (в опорной точке № 1) эквивалентные уровни звука, создаваемые поездами эконом-класса статистически значимо снижаются на 12,0 дБА, бизнес-класса на 12,7 дБА. Максимальные уровни, создаваемые поездами обоих классов в опорной точке № 1, статистически значимо снижаются на 12,4 дБА. При спектральном анализе железнодорожного шума от пассажирских поездов регионального и межрегионального сообщения в опорной точке № 1 выявлено, что эквивалентные уровни звукового давления во всех октавных полосах частот статистически значимо снижаются на 6–16 дБ (в зависимости от октавной полосы) при движении поездов эконом-класса и на 10–16 дБ при движении поездов бизнес-класса.

На основании результатов определения шума, создаваемого при движении пассажирских поездов эконом- и бизнес-классов, в опорной точке № 2, расположенной на расстоянии 175 м от условного акустического центра потока железнодорожного транспорта, показано, что эквивалентные и максимальные уровни звука, создаваемые поездами эконом-класса, статистически значимо снижаются на 15,4 и 15,5 дБА, бизнес-класса на 18,2 и 18,1 дБА соответственно. Анализ спектра железнодорожного шума в опорной точке № 2 установил схожее по значениям для поездов обоих классов статистически значимое снижение эквивалентных уровней звукового давления во всех октавных полосах частот.

Сравнение уровней шума, создаваемого при проезде пассажирских поездов региональных и межрегиональных линий, в опорных точках показало, что в точке на расстоянии 125 м от оси ближнего к измерительной точке магистрального железнодорожного пути уровни звукового давления в октавных полосах с частотами 31,5; 250 и 500 Гц, создаваемые поездами эконом-класса, статистически значимо выше на 4–5 дБ, чем при проезде поездов бизнес-класса. При удалении на расстояние 175 м от магистрального пути железной дороги тенденция на увеличение разницы в уровнях шума между поездами эконом- и бизнес-классов сохранилась. Так отмечено, что в опорной точке № 2 уровни звукового давления, создаваемые поездами эконом-класса, статистически значимо выше на 3,4; 4,8; 5,7; 5,9 и 4,3 дБ в октавных полосах с частотами 31,5; 250; 500; 1000 и 2000 Гц соответственно. Кроме того, установлено в данной опорной точке эквивалентные и максимальные уровни шума, создаваемого при движении поездов бизнес-класса, статистически значимо на 4,7 и 4,6 дБА соответственно ниже, чем при прохождении мимо измерительных точек поездов эконом-класса.

Заключение. Результаты исследования показали, что несмотря на то, что уровни шума, создаваемые пассажирскими поездами региональных и межрегиональных линий эконом- и бизнес-классов в базовой точке (условно характеризующей шум непосредственно в источнике) существенно не отличаются, при распространении звуковой волны, формируемой данными группами поездов вглубь территорий, прилегающих к железной дороге, отмечается большее снижение уровней звука и звукового давления, создаваемых поездами бизнес-класса.

Анализ рассчитанных эквивалентных уровней звука и звукового давления указывает, что на расстоянии 125 м и более от ближнего к измерительной точке магистрального железнодорожного пути, поезда эконом-класса вносят статистически значимо больший вклад в формирование акустической ситуации на прилегающих территориях, чем поезда бизнес-класса.

Таким образом, полученные в ходе проведенных исследований результаты указывают, что с учетом уровней шума, создаваемых пассажирскими поездами региональных и межрегиональных линий разных классов, а также существующей в настоящее время доли поездов эконом- и бизнес-классов в структуре пассажирских железнодорожных перевозок, при проведении измерений железнодорожного шума с целью последующей гигиенической оценки группу пассажирских поездов региональных и межрегиональных линий целесообразно разделять на 2 подгруппы, включающие поезда эконом- и бизнес-классов.

Сведения о НИР. НИР «Разработать метод гигиенической оценки транспортного шума на границах населенных пунктов при эксплуатации железнодорожных путей и автомобильных дорог общего пользования» подпрограммы «Безопасность среды обитания человека» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», 2021–2025 годы, регистрационный номер 20220338.

Литература

1. Environmental noise guidelines for the European Region / World Health Org. Regional office for Europe. – Copenhagen : WHO, 2018. – 160 p.

2. Европейское руководство по контролю ночного шума / Всемир. орг. здравоохранения. Европ. регион. бюро. – Копенгаген : Европ. регион. бюро ВОЗ, 2014. – 207 с.

3. De Vos, P. Railway noise in Europe. State of the art report / P. de Vos ; Int. Union of Railways. – Paris : UIC, 2016. – 39 p.

4. Комплексный подход к формированию благоприятной акустической обстановки городских территорий, обусловленной воздействием транспорта / И. В. Арбузов, И. В. Соловьева, А. Ю. Баслык, А. В. Кравцов // Здоровье и окружающая среда : сб. материалов Междунар. науч.-практ. конф., г. Минск, 19–20 нояб. 2020 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены ; редкол.: С. И. Сычик [и др.]. – Минск, 2021. – С. 3–7.

5. Good practice guide on noise exposure and potential health effects / Eur. Environment Agence. – Copenhagen : EEA, 2010. – (EEA Technical report ; № 11). – URL: <https://www.eea.europa.eu/publications/good-practice-guide-on-noise> (date of access: 20.09.2024).

6. Reducing railway noise pollution / C. Uwe, D. Claus, J. F. Francis [et al.] ; Directorate General for Int. Policies Policy, Depart. B: Structural and Cohesion Policies, Transport and Tourism. – Brussels : European Union, 2012. – 6 p.

7. Railway noise annoyance on the railway track in Northwest Slovakia / A. Pultznerova, E. Panulinova, D. Kucharova, L. Argalasova // Noise and Health. – 2018. – Vol. 20, № 94. – P. 90–100.

8. Murphy, E. Environmental noise pollution noise mapping, public health, and policy / E. Murphy, E. A. King. – 2nd ed. – Amsterdam : Elsevier Sci., 2022. – 332 с.

9. Белорусская железная дорога [сайт]. – URL: <https://pass.rw.by/ru/help/trains/message-types/> (дата обращения: 04.09.2024).

10. Результаты исследований шума, создаваемого при движении грузовых поездов, на расстоянии 175 м от железнодорожного пути / И. В. Соловьева, А. Ю. Баслык, И. В. Арбузов, А. В. Кравцов // Современные аспекты профилактической медицины : сб. науч. ст. Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, приуроч. к 30-летию каф. экол. и профилактик. медицины, г. Гомель, 26 окт. 2023 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Гомел. гос. мед. ун-т, Рос. акад. естеств. наук ; редкол.: И. О. Стома [и др.]. – Гомель, 2023. – С. 115–119. – 1 CD-ROM.

11. Однократные прямые измерения уровней звука, звукового давления и вибрации приборами серий ОКТАВА и ЭКОФИЗИКА : МИ ПКФ-12-006. Методика измерений : прил. к рук. по эксплуатации / Приборостроит. об-ние «ОКТАВА-ЭЛЕКТРОНДИЗАЙН», ООО «ПКФ Цифровые приборы». – М. :

Приборостроит. об-ние «ОКТАВА-ЭЛЕКТРОДИЗАЙН», ООО «ПКФ Цифровые приборы», 2024. – URL: <https://www.octava.info/files/octava/%D0%A1%D1%82%D0%B0%D1%82%D1%8C%D0%B8/%D0%9C%D0%98%D0%9F%D0%9A%D0%A4-12-006.pdf> (дата обращения: 06.08.2024).

12. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О. Ю. Реброва. – М. : Медиа Сфера, 2002. – 312 с.

Solovjewa I. V., Baslyk A. Y., Krautsou A. V., Arbuzov I. V., Aheyu Y. P.

RESULTS OF THE STUDIES OF NOISE GENERATED DURING THE MOVEMENT OF PASSENGER TRAINS ON REGIONAL AND INTERREGIONAL LINES OF BELARUSIAN RAILWAY

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

Noise characteristics at 25 m from the axis of the nearest mainline railroad track (base point), as well as sound levels and sound pressure of regional and interregional economy and business class passenger trains at a distance of 125 m and 175 m from the railway were investigated. Equivalent sound levels taking into account the uncertainty of measurements at the base points were 74.4 dBA from economy class trains, 72.5 dBA from business class trains, at a distance of 125 m from the railroad – 62.4 and 59.8 dBA respectively, at a distance of 175 m from the railroad – 59.0 and 54.3 dBA respectively. It is shown that economy class passenger trains make a statistically significantly greater contribution to the formation of the acoustic situation in the adjacent areas than business class trains.

Keywords: noise, sound pressure level, passenger train, railway.

References

1. Environmental noise guidelines for the European Region. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2018.

2. Night noise guidelines for Europe. Copenhagen: Evrop. region. byuro VOZ; 2014. (in Russian)

3. De Vos P. Railway noise in Europe. State of the art report. Paris: UIC; 2016.

4. Arbuzov I. V., Solovjewa I. V., Baslyk A. Y., Kravcov A. V. Integrated approach to the formation of favorable acoustic environment of urban areas, caused by the impact of transportation. In: Sychik S. I., chief ed. Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda (Health and environment): Sb. materialov Mezhdunar. nauch.-prakt. konf., g. Minsk, 19–20 noyab. 2020 g. Minsk; 2021: 3–7. (in Russian)

5. Good practice guide on noise exposure and potential health effects. Copenhagen: EEA; 2010. EEA Technical report; № 11. Available at: <https://www.eea.europa.eu/publications/good-practice-guide-on-noise> (accessed 20 September 2024).

6. Uwe C., Claus D., Francis J. F. et al. Reducing railway noise pollution. Brussels: European Union; 2012.

7. Pultznerova A., Panulinova E., Kucharova D., Argalaso L. Railway noise annoyance on the railway track in Northwest Slovakia. Noise Health. 2018; 20(94): 90–100.

8. Murphy E., King E. A. Environmental noise pollution noise mapping, public health, and policy. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier Sci.; 2022.

9. Belarusian railway. Available at: <https://pass.rw.by/ru/help/trains/message-types/> (accessed 04 September 2024). (in Russian)

10. Solovjewa I. V., Baslyk A. Y., Arbuzov I. V., Kravcov A. V. Results of studies of noise generated by freight trains at a distance of 175 m from the railway. In: Stoma I.O., chief ed. Sovremennye aspekty profilakticheskoy mediciny (Modern aspects of preventive medicine): Sb. nauch. st. Resp. nauch.-prakt. konf. s mezhdunar. uchastiem, priuroch. k 30-letiyu kaf. ekol. i profilakt. mediciny, g. Gomel', 26 okt. 2023 g. Gomel; 2023: 115–9. 1 CD-ROM. (in Russian)

11. Single direct measurements of sound levels, sound pressure and vibration using devices of the OCTAVA and ECOPHYSIKA series: MI PKF-12-006. Measurement technique: pril. k ruk. po ekspluatatsii. Moscow: Priborostroit. ob-nie «ОКТАВА-ЭЛЕКТРОДИЗАЙН», ООО «ПКФ Цифровые приборы»; 2024. Available at: <https://www.octava.info/files/octava/%D0%A1%D1%82%D0%B0%D1%82%D1%8C%D0%B8/%D0%9C%D0%98%D0%9F%D0%9A%D0%A4-12-006.pdf> (accessed 06 August 2024). (in Russian)

12. Rebrova O. Y. Statistical analysis of medical data. Application of the STATISTICA software package. Moscow: Mediasfera; 2002. (in Russian)

e-mail для переписки: physical.factors@rspch.by

Поступила 07.10.2024

Раздел 2

РАДИАЦИОННАЯ МЕДИЦИНА

УДК 612:546.32:616-073.75

Аветисов А. Р., Делавари Д. М.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АБСОЛЮТНЫХ И ОТНОСИТЕЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МАССЫ КАЛИЯ В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ РАДИОМЕТРИИ ИЗОТОПА К-40

*Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь*

Аннотация. Исследование призвано выявить возможность определения абсолютных и относительных показателей массы общего калия в организме человека методом радиометрии излучения радиоизотопа ^{40}K . При проведении исследования данная возможность подтвердилась, выявлен ряд закономерностей распределения калия в организме человека, в зависимости от ряда антропометрических параметров.

Ключевые слова: калий, спектрометр излучений человека, масса, радиоизотоп.

Введение. Калий является важным макроэлементом в организме человека. От его количества зависит адекватность функционирования всех клеток. Знание о его концентрации позволяет как диагностировать различные патологии, так и вести с этой целью профилактический скрининг населения.

Основным клиническим методом определения концентрации калия в сыворотке крови является традиционная спектрофотометрическая биохимия. Однако современные методы определения показателей калия достаточно требовательны к персоналу, дорогостоящи, сложны в применении, а также требуют постоянного пополнения расходных материалов.

Цель работы – данная работа призвана выявить возможность определения физиологических показателей калия в организме человека неинвазивным, не дозовым, простым, высокоточным, быстрым и дешевым методом.

Подобными характеристиками обладает метод радиометрии. В его основе лежит детекция природного радионуклида ^{40}K , уже содержащегося в организме пациента. Период полураспада данного радионуклида составляет более миллиарда лет, а содержание в природном калии составляет около 0,012 %, поэтому даже на фоне ежедневной потребности в калии в 3–4 грамма в сутки, он формирует дозу облучения порядка 0,1–0,2 мЗв/год из 3,0 мЗв от всех источников фона. При этом ^{40}K содержится в количестве, достаточном для проведения расчета показателей общего калия.

Метод перевода в абсолютную массу общего калия не является новым и проверен десятками, если не сотнями, научных исследований. Многочисленные успешные исследования проводила и Академия наук СССР, результаты которых будут упомянуты в работе.

Имея рабочую математическую формулу, возможна конвертация данных об абсолютном содержании общего калия в организме человека в концентрацию калия в сыворотке крови. При этом подобное исследование будет нетребовательным к персоналу, достаточно простым в проведении и не будет затратным для бюджета учреждений здравоохранения. Из расходных материалов необходима лишь электроэнергия на работу прибора мощностью около 300 Вт/ч, что сравнимо с энергозатратами на работу современной ПЭВМ.

Материалы и методы. В соответствии с научно-исследовательскими задачами кафедры по анализу доз внутреннего облучения населения Лунинецкого района Брестской области была сформирована и проанализирована группа лиц, проживающих на загрязненных изотопом ^{137}Cs участках района, а также составлена подробная база данных, включающая в себя главные идентификационные показатели внутреннего облучения населения [1].

По результатам 58 809 измерений спектрометра излучений человека (далее – СИЧ) в режиме радиометрии в период с 2015 по 2019 год в Лунинецком районе Брестской области проведена комплексная оценка полученных данных и их обработка. Предварительная обработка результатов,

а также конверсия показателей в рамках созданных рабочих формул проводилась с помощью программы Microsoft Excel. Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программы Statistica 12.

Из-за значительного периода полураспада ^{40}K его массовая доля в природе стабильна и в настоящее время составляет примерно 0,000117 (0,0117 %) [2]. Активность 1 г ^{40}K составляет примерно $2,652 \times 10^5$ Бк. Исходя из этого, возможно составить рабочую математическую формулу для конвертации активности ^{40}K , полученной в ходе СИЧ, в абсолютную массу общего калия в организме человека.

Таким образом, всегда измеряемая и регистрируемая по умолчанию с помощью СИЧ активность ^{40}K может быть использована не только для определения активности ^{137}Cs , но и для расчета содержания общего калия. Формула (1) имеет следующий вид:

$$m_K = \frac{A_{\text{СИЧ}}}{A_{40\text{K}}} \times \frac{1}{\omega_{\text{K40}}}, \quad (1)$$

где m_K – масса общего калия организма;

$A_{\text{СИЧ}}$ – активность ^{40}K по результатам СИЧ, Бк;

$A_{40\text{K}}$ – активность 1 г чистого изотопа ^{40}K ($2,652 \times 10^5$ Бк);

ω_{K40} – массовая доля ^{40}K в природе (0,0117 %).

Результаты и обсуждение. Установлены меры центральной тенденции и изменчивости данных содержания общего калия в организме человека (таблица 1).

Таблица 1 – Статистика измерений ^{40}K и результатов его конвертации в общий К

Показатель*	Описательная статистика						
	среднее	медиана	нижний квартиль	верхний квартиль	стд. отклонение	асимметрия	эксцесс
^{40}K (Бк)	2845,40	2794,50	2194,80	3465,30	1009,927	0,4784	1,025
^{40}K (Бк/кг)	43,711	43,190	38,394	47,854	7,420	1,287	4,026
Общий К (г)	91,787	90,145	70,80	111,784	32,578	0,4784	1,025
Общий К (г/кг)	1,410	1,393	1,239	1,544	0,239	1,287	4,026

Примечание – * – здесь и далее по тексту значение калия в граммах или граммах на килограмм массы тела обозначает весь, т. е. общий или суммарный калий.

Меры центральной тенденции и статистические закономерности, полученные при пересчете абсолютных и относительных значений активности радиоизотопа ^{40}K с помощью формулы 1, представленной выше, соответствуют ранее полученным данным как отечественных [3], так и иностранных исследователей по идентичной тематике [4, 5]. Более подробно все закономерности распределения как абсолютного, так и общего калия в организме человека будут рассмотрены и описаны ниже, с приведением всех полученных в ходе исследования данных.

В ходе проведения теста на соответствие критерию Колмогорова – Смирнова и Лиллиефорса установлено, что распределение не является нормальным как для абсолютной, так и для удельной массы общего калия, что говорит о необходимости применения непараметрических методов обработки и анализа статистических данных (рисунки 1, 2 соответственно).

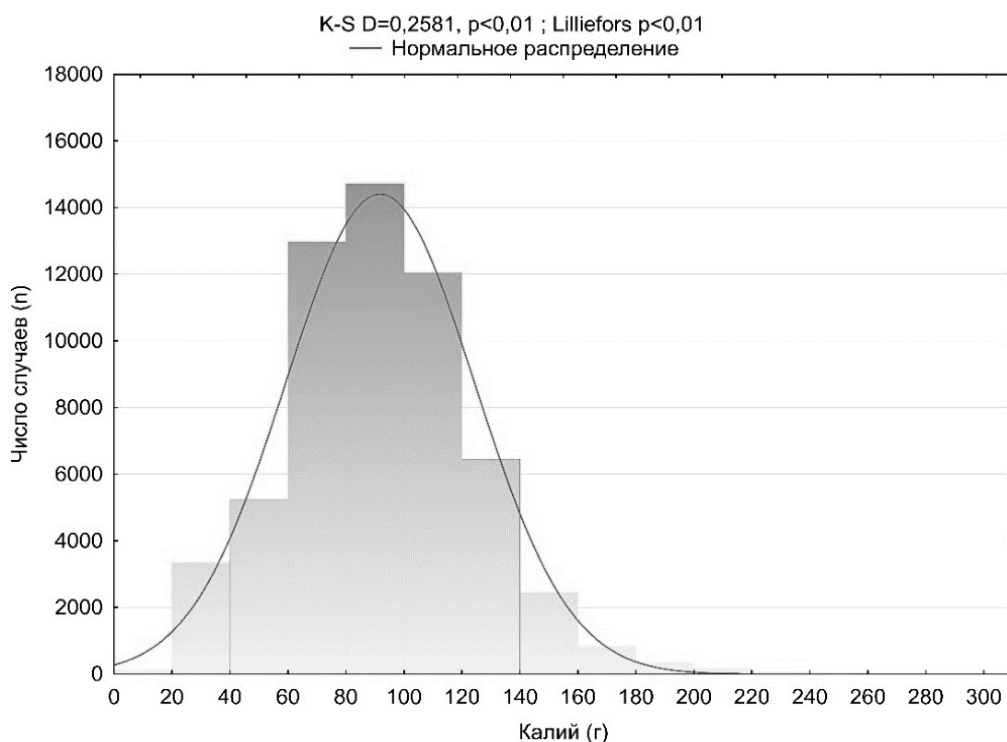


Рисунок 1 – Абсолютное содержание общего калия

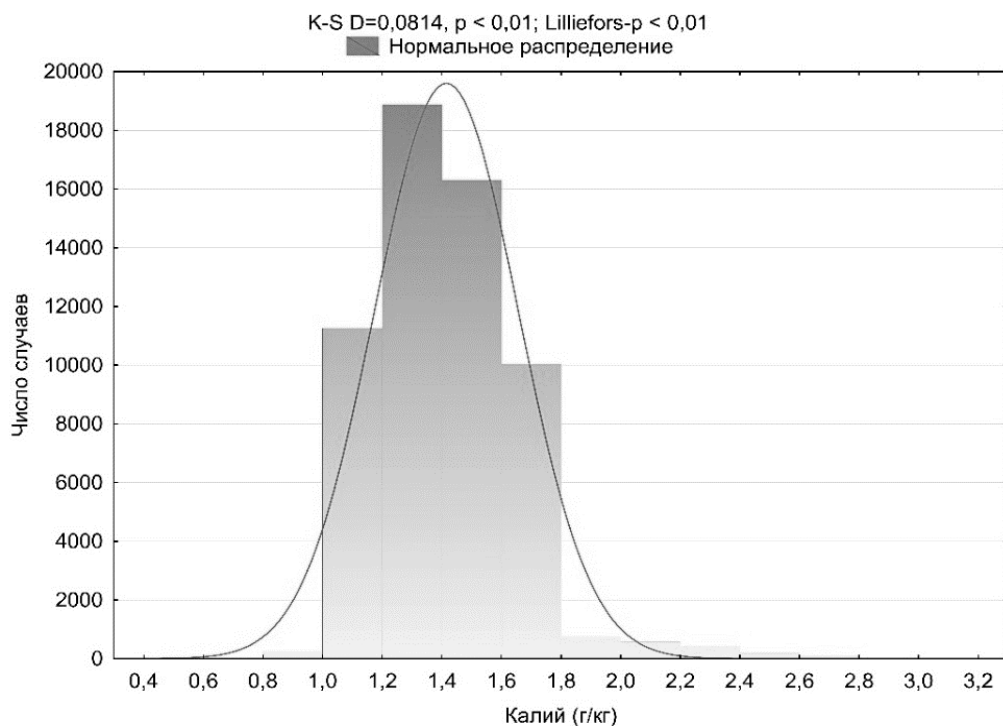


Рисунок 2 – Удельное содержание общего калия

Для удобства анализа, в соответствии с требованиями и рекомендациями ВОЗ, НКДАР ООН и МКРЗ, выборка разделена на возрастные группы. Выявлена статистически значимая зависимость содержания калия в организме человека от возраста и пола. Обнаружено, что как абсолютные, так и удельные значения массы общего калия у мужчин достоверно выше, чем у женщин на 18,6 % ($p < 0,001$) (рисунки 3, 4 соответственно).

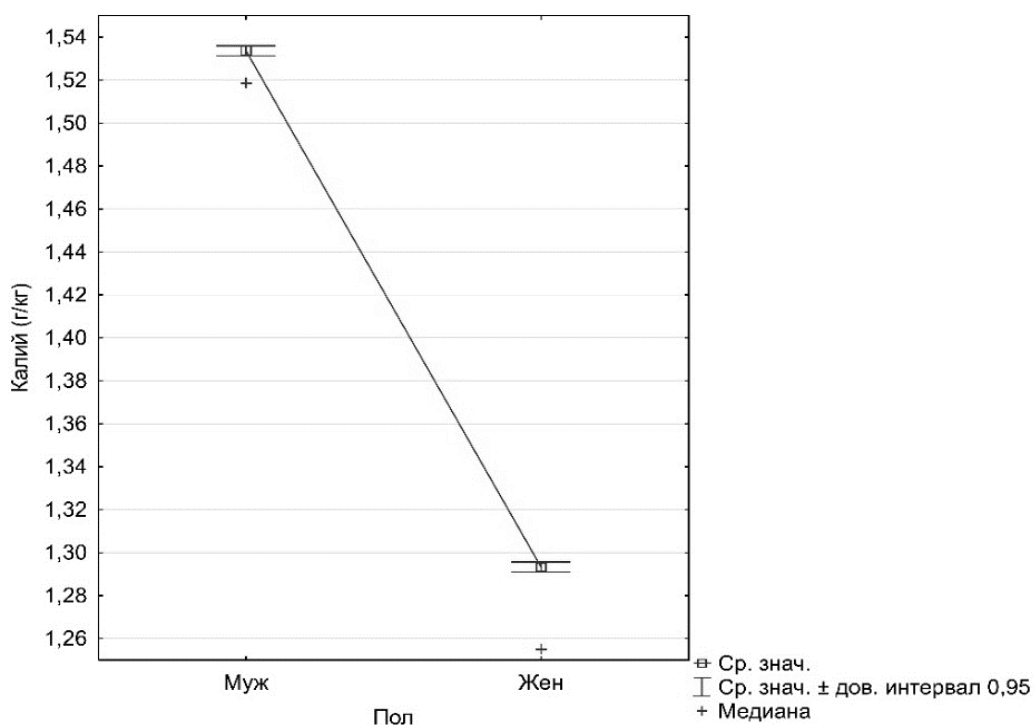


Рисунок 3 – Абсолютное содержание общего калия в зависимости от пола

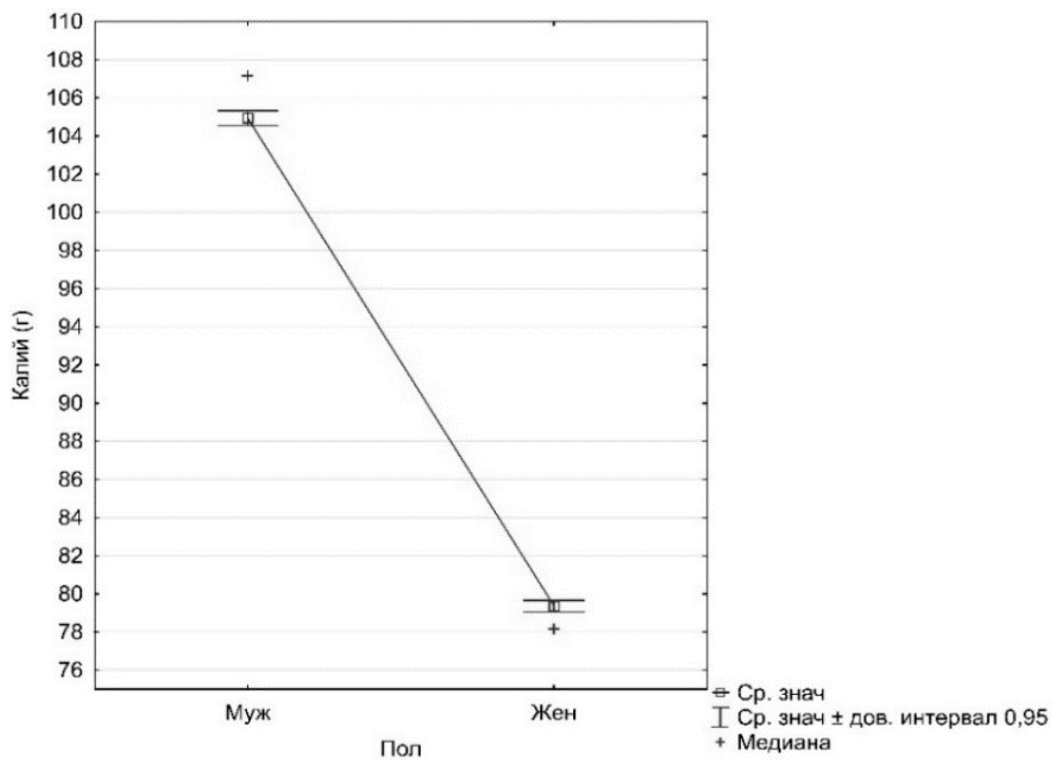


Рисунок 4 – Удельное содержание общего калия в зависимости от пола

Наблюдается обратная зависимость удельной массы общего калия от возраста, это подтверждает дисперсионный анализ ANOVA и тест Краскела – Уоллиса ($p = 0,00001$), представленные на рисунке 5. Высокий уровень доверительного интервала 0,95 в группе 90+ лет вызван наличием всего двух случаев в выборке, вследствие чего получилась графическая интерпретация статистики, представленная ниже.

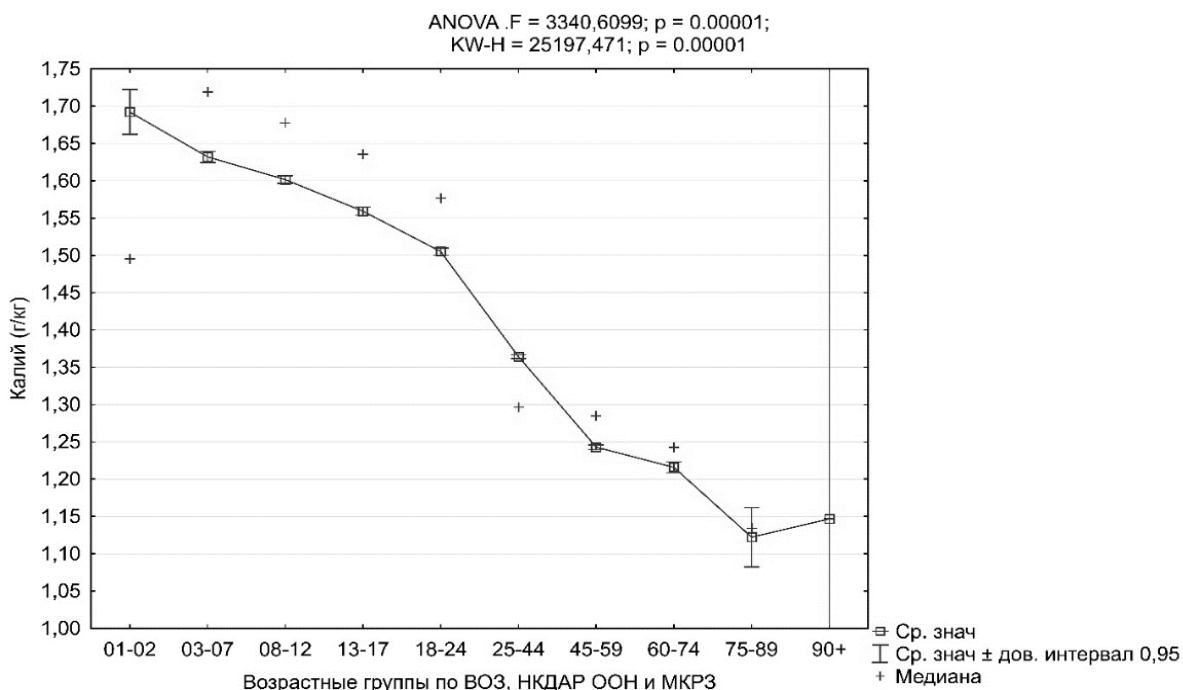


Рисунок 5 – Удельное содержание калия в зависимости от возраста

Для подтверждения влияния возраста на уровень общего калия в организме человека проведен соответствующий регрессионный анализ (рисунок 6).

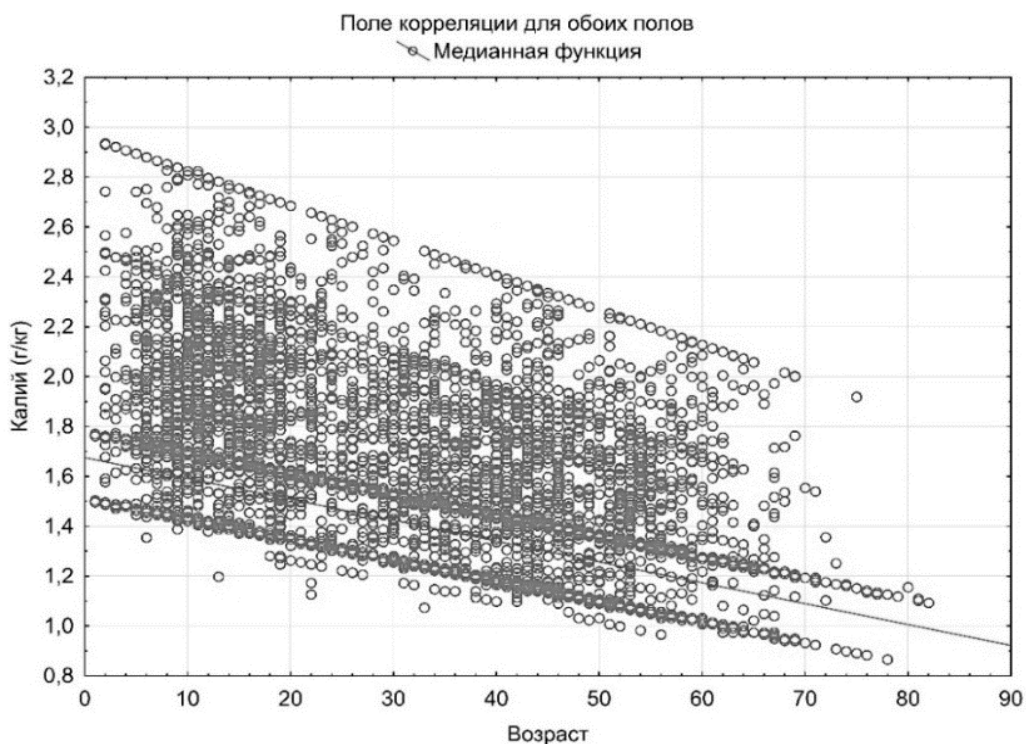


Рисунок 6 – Зависимость содержания калия от возраста

На графике сплошной линией обозначена линейная зависимость медианных значений удельного содержания калия (линия регрессии) в зависимости от возраста испытуемого. Самое высокое содержание калия наблюдается в возрасте до 2-х лет и далее оно необратимо снижается. Схожие графики составлены для каждого пола в отдельности (рисунок 7, 8).

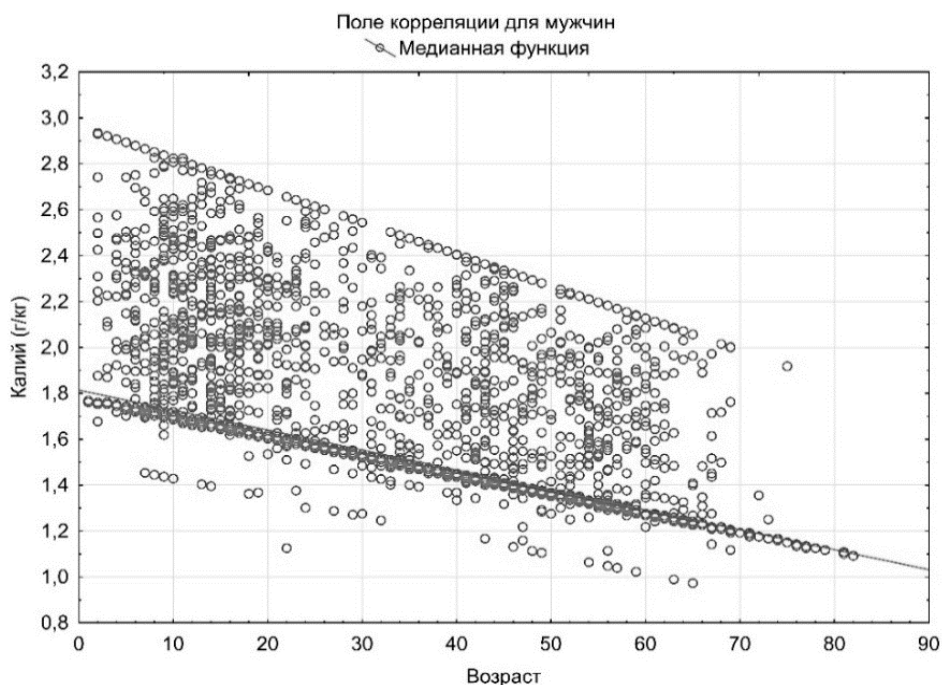


Рисунок 7 – Зависимость содержания калия от возраста у мужчин

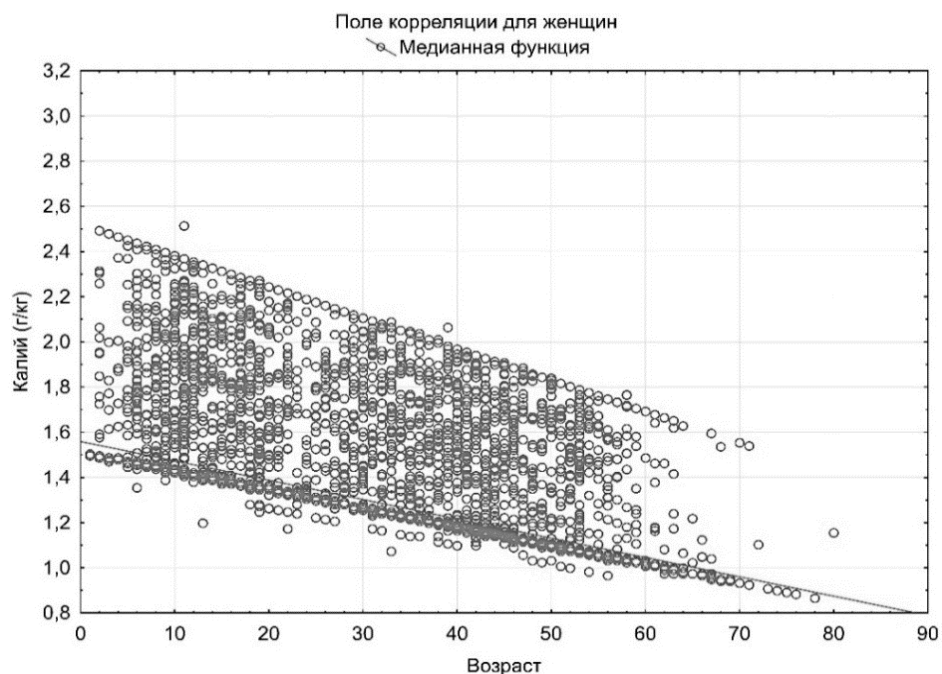


Рисунок 8 – Зависимость содержания калия от возраста у женщин

На основании полученных данных составлены уравнения регрессии, которые имеют следующий вид:

- 1) Калий (г/кг) = 1,814 – 0,0087 × Возраст (для мужчин),
- 2) Калий (г/кг) = 1,5592 – 0,0086 × Возраст (для женщин).

Следует отметить, что скорость падения во времени удельного содержания калия у мужчин и женщин сопоставимы, но отличаются абсолютным содержанием калия и коэффициентом регрессии, что отчетливо видно на графиках и уравнениях регрессии.

С учетом полученных данных создан график, отражающий зависимость удельного содержания калия в организме человека от возраста, с указанием конкретного числа случаев различных комбинаций

параметров, указанных выше (рисунок 9). Можно заметить, что максимальные значения удельного содержания калия встречаются в более молодом возрасте, в то время как минимальные значения удельного содержания калия намного чаще встречаются с ростом возраста ($p < 0,01$). Схожая закономерность также описана в пособиях по клинической биохимии, которые предназначены в первую очередь для работников биохимических лабораторий и клинических ординаторов.

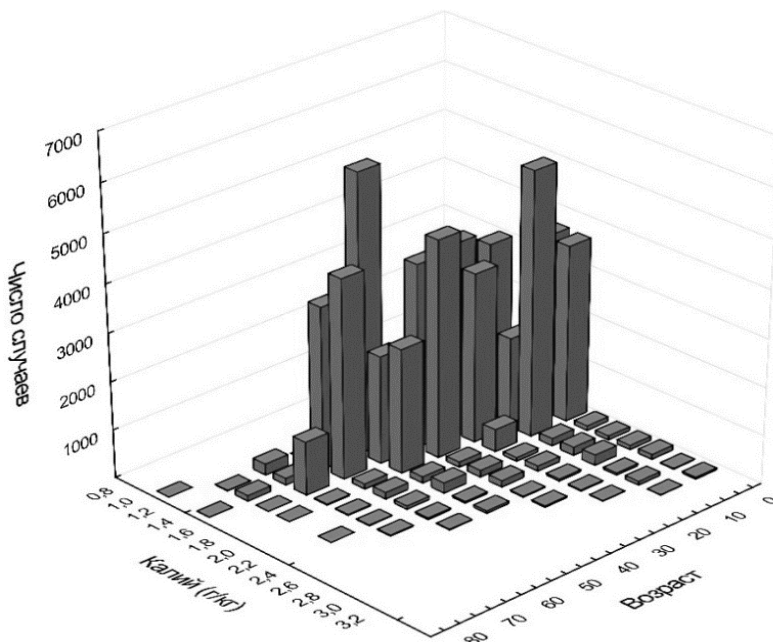


Рисунок 9 – Зависимость удельного содержания калия от возраста

Аналогичный график также составлен для оценки удельного содержания калия в организме человека в зависимости от индекса массы тела (далее – ИМТ) испытуемого (рисунок 10). Более высокие значения удельного содержания калия встречаются чаще при нормальном ИМТ ($p < 0,01$). С ростом ИМТ удельное содержание калия снижается ($p < 0,01$).

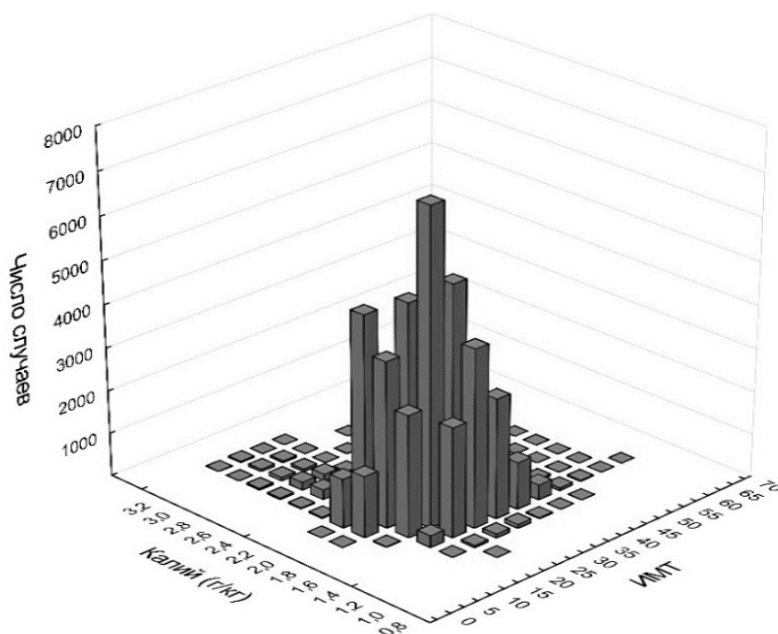


Рисунок 10 – Зависимость удельного содержания калия от ИМТ

Исходя из полученных в ходе данной части исследования данных, для обобщения и оптимизации восприятия полученных результатов, построен трехмерный график в виде искривленной поверхности, подробно отражающий зависимость удельного содержания калия в организме человека как от возраста, так и от ИМТ (рисунок 11). Эти данные сопоставимы с данными литературных источников [3–7].

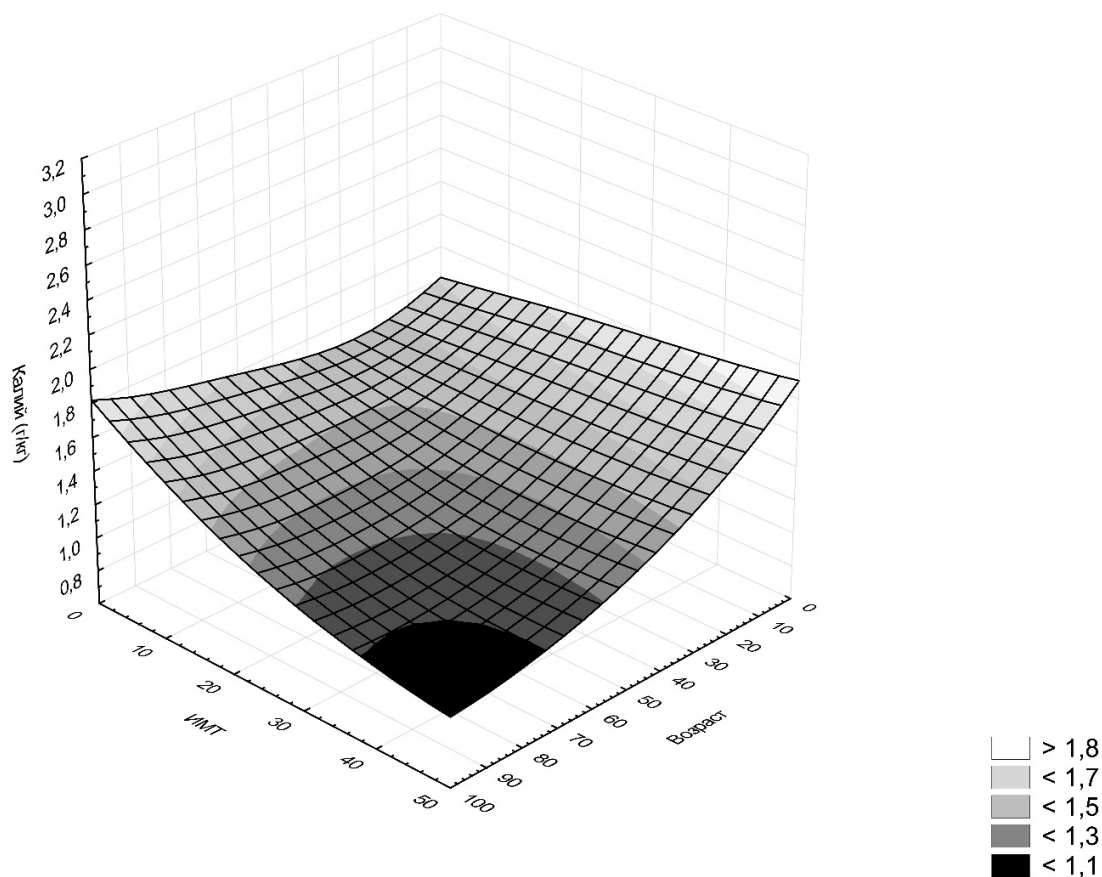


Рисунок 11 – Зависимость удельного содержания калия от возраста и ИМТ

Заключение. В ходе проведения исследования установлены следующие выводы:

1. Уровень общего калия в организме человека с высокой степенью точности возможно рассчитать путем детекции γ -излучения радиоизотопа ^{40}K с помощью СИЧ в режиме радиометрии.
2. Содержание калия в организме человека с возрастом достоверно снижается.
3. Содержание калия у мужчин достоверно выше, чем у женщин.
4. Высокий уровень ИМТ является фактором риска низкого содержания калия в организме человека, что в свою очередь может влиять на вероятность развития заболеваний сердечно-сосудистой системы.
5. Определение концентрации калия неинвазивным методом можно использовать как для профилактического скрининга, так и для лабораторной диагностики.
6. Полученные нами данные сопоставимы с данными литературных источников.

Литература

1. Аветисов, А. Р. Оценка накопления ^{40}K у жителей Лунинецкого района Брестской области / А. Р. Аветисов // Актуальные вопросы радиационной и экологической медицины, лучевой диагностики и лучевой терапии : сб. материалов VI межвузов. науч.-практ. интернет-конференции студентов, магистрантов, аспирантов и молодых ученых, г. Гродно, 30 марта 2022 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Гроднен. гос. мед. ун-т ; редкол.: А. С. Александрович (отв. ред.), Т. И. Зиматкина. – Гродно, 2022. – С. 3–8. – 1 CD-ROM.
2. The NUBASE2016 evaluation of nuclear properties / G. Audi, F. G. Kondev, Wang Meng [et al.] // Chinese Physics C. – 2017. – Vol. 41, № 3. – DOI: 10.1088/1674-1137/41/3/030001.

3. Габуня, Р. И. Метод радиометрии всего тела в клинической диагностике / Р. И. Габуня. – М. : Медицина, 1975. – 200 с.

4. Thulasi Brindha, J. A comparative study of body potassium content in males and females at Kalpakkam (India) / J. Thulasi Brindha, S. Rajaram, V. Kannan // *Radiation Protection Dosimetry*. – 2007. – Vol. 123, № 1. – P. 36–40.

5. Total body potassium and body fat: relevance to aging / J. J. Kehayias, M. A. Fiatarone, H. Zhuang, R. Roubenoff // *The American Journal of Clinical Nutrition*. – 1997. – Vol. 66, № 4. – P. 904–910.

6. Body potassium content and radiation dose from ^{40}K for the urals population (Russia) / E. I. Tolstykh, M. O. Degteva, N. G. Bougrov, B. A. Napier // *PLoS One*. – 2016. – Vol. 11, № 4. – DOI: 10.1371/journal.pone.0154266.

7. Cox, J. R. Potassium changes with age / J. R. Cox, W. A. Shalaby // *Gerontology*. – 1981. – Vol. 27, № 6. – P. 340–344.

Avetisov A. R., Delavari D. M.

DETERMINATION OF ABOLUTE AND RELATIVE INDICATORS THE MASS OF POTASSIUM IN THE HUMAN BODY BY THE K-40 ISOTOPE RADIOMETRY METHOD

Educational institution «Belarusian State Medical University», Minsk, Belarus

The study aims to identify the possibility of determining the absolute and relative mass indices of total potassium in the human body by radiometry of radiation of the ^{40}K radioisotope. During the study, this possibility was confirmed, a number of patterns of potassium distribution in the human body were revealed, depending on a number of anthropometric parameters.

Keywords: potassium, human radiation spectrometer, mass, radioisotope.

References

1. Avetisov A. R. Estimated accumulation of ^{40}K among residents of the Luninetsky district of the Brest region. In: Aleksandrovich A. S., Zimatkina T. I., eds. *Aktual'nye voprosy radiacionnoj i ekologicheskoy mediciny, luchevoj diagnostiki i luchevoj terapii (Current issues in radiation and environmental medicine, radiation diagnostics and radiation therapy)*: Sb. materialov VI mezhvuzov. nauch.-prakt. internet-konferenciya studentov, magistrantov, aspirantov i molodyh uchenyh, g. Grodno, 30 marta 2022 g. Grodno; 2022: 3–8. (in Russian)

2. Audi G., Kondev F. G., Wang Meng et al. The NUBASE2016 evaluation of nuclear properties. *Chin Phys C*. 2017; 41(3). DOI: 10.1088/1674-1137/41/3/030001.

3. Gabuniya R. I. *Whole body radiometry method in clinical diagnostics*. Moscow: Medicina; 1975. (in Russian)

4. Thulasi Brindha J., Rajaram S., Kannan V. A comparative study of body potassium content in males and females at Kalpakkam (India). *Radiat Prot Dosimetry*. 2007; 123(1):36–40.

5. Kehayias J. J., Fiatarone M. A., Zhuang H., Roubenoff R. Total body potassium and body fat: relevance to aging. *Am J Clin Nutr*. 1997; 66(4): 904–10.

6. Tolstykh E. I., Degteva M. O., Bougrov N. G., Napier B. A. Body potassium content and radiation dose from ^{40}K for the urals population (Russia). *PLoS One*. 2016; 11(4). DOI: 10.1371/journal.pone.0154266.

7. Cox J. R., Shalaby W. A. Potassium changes with age. *Gerontology*. 1981; 27(6): 340–4.

e-mail для переписки: avetisov@tut.by

Поступила 07.10.2024

Бондарева Л. Г., Тананаев И. Г.¹

ПОЛИГОН ЖИДКИХ РАДИОАКТИВНЫХ ОТХОДОВ ГОРНО-ХИМИЧЕСКОГО КОМБИНАТА «СЕВЕРНЫЙ» (КРАСНОЯРСК) – ОЦЕНКА ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ РИСКОВ ДЛЯ НАСЕЛЕНИЯ

*Федеральное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека,
г. Мытищи, Россия*

*¹ Обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения
науки Федерального исследовательского центра «Кольский научный центр Российской
академии наук» Институт химии и технологии редких элементов и минерального сырья
им. И. В. Тананаева, г. Апатит, Россия*

Аннотация. Проведено обследование санитарно-защитной зоны полигона «Северный» на площади более 140 км². В работе использованы данные, полученные в ходе мониторинга с использованием геоморфологических, описательных, химических и физико-химических методов обнаружения и предварительной подготовки проб для анализа. Изучались наиболее распространенные виды растений. Выявлено, что на растения существенное влияние оказывает накопление таких радионуклидов, как ⁴⁰K, ¹³⁷Cs, ²³²Th и ²³⁸U. Средняя концентрация урана в исследованных водоисточниках в среднем составила $1,4 \times 10^{-6}$ г/л, максимальная – $2,5 \times 10^{-6}$ г/л. Концентрация тория в водоемах в диапазоне $3,5 \times 10^{-7}$ – $0,8 \times 10^{-8}$ г/л. Установлены содержание радионуклидов (³H, ¹³⁷Cs) и некоторых металлов в снежном покрове за период наблюдений, значение которых не превышало выявленных концентраций для аналогичных предприятий в РФ. Таким образом, по предварительным результатам, отклонений в пределах исследуемой территории не выявлено. Эксплуатация полигона «Северный» не вносит негативного вклада в экологическое равновесие в Красноярском крае, так и в Российской Федерации в целом. Тем самым угрозы для проживающего населения края функционирование полигона жидких радиоактивных отходов не выявлено.

Ключевые слова: радиоактивные отходы, полигон, экологические риски, население.

Введение. Расположенный в центральной части Сибири, Красноярский край занимает 2,34 млн км², или 13,6 % всей территории России. Красноярский край является одним из ключевых регионов страны. Богатый природными ресурсами, он обладает высокоразвитой промышленностью, играющей ведущую роль в экономике Российской Федерации, и имеет научный и интеллектуальный потенциал. Край стабильно входит в десятку регионов с самым высоким валовым внутренним продуктом в России.

Особую роль играют ядерно- и радиационно-опасные производства, созданные в пятидесятые-шестидесятые годы прошлого века в крае и краевом центре [1–5]. Эксплуатация этих предприятий оказывает существенное влияние на радиационную обстановку в регионе, в том числе и на экологическую ситуацию в целом. Это является определяющим фактором потенциальной радиационной опасности и экологической напряженности на протяжении десятков и сотен лет.

В настоящее время на территории горно-химического комбината «Северный» (далее – ГХК) хранится 6500 м³ высокоактивных шламообразных отходов ядерного наследия, оставшихся после программы по производству оружейного плутония. Общая активность этих отходов составляет $1,3 \times 10^8$ Ки, при этом 90 % отходов находится в резервуарном комплексе Радиохимического завода [4–6].

Средне- и низкоактивные жидкие отходы направляются на глубинное захоронение в гидравлически изолированные проницаемые горизонты на площадке закачки «Северный», расположенной в 12 км к северо-востоку от основной производственной зоны предприятия [7].

Полигон захоронения РАО «Северный» является одним из уникальных геолого-технических объектов, созданных в СССР в середине прошлого века для минимизации опасностей, связанных с жидкими радиоактивными отходами (далее – ЖРО) [8].

Хранилище высокоактивных (далее – ВАО) и среднеактивных (далее – САО) отходов находится на глубине 300–400 м от поверхности и имеет емкость до 80–100 м. ЖРО закачиваются через восемь скважин. Площадь ВАО составляет около 0,03 км², САО – 1,1–1,2 км². Хранилище низкоактивных (далее – НАО) отходов находится на глубине 170–220 м, имеет емкость около 60 м, закачка

осуществляется через четыре скважины. Площадь хранилища составляет около 1,8 км². Сброс отходов на полигоне «Северный» осуществляет с 1967 года. По состоянию на 2015 год в два глубоких водоносных горизонта закачано около 5 млн м³ ЖРО общей активностью около 260 × 10⁶ Ки (распад с поправкой на 1995 год) [7, 8].

Цель работы — выявление возможных аномалий радиационного фона в районе полигона «Северный» для дальнейшей оценки потенциальной опасности для населения.

Материалы и методы.

2.1. Характеристика района исследований.

Подземное захоронение – это контролируемая закачка ЖРО в глубокозалегающие подземные горизонты, с застойным водообменом и водоупорными породами, разделяющими подстилающие и перекрывающие пласты. Закачка отходов осуществляется через специально оборудованные скважины и сопровождается контрольными наблюдениями за распределением отходов в подземном пространстве и состоянием окружающей среды: подземных и поверхностных вод, воздуха, почвы и растительности. Влияние захороненных компонентов ЖРО на биосферу остается практически не обнаруживаемым, как это отмечается в большинстве других регионов [7, 8]. На участке эксплуатируются около 150 скважин, которые по своему назначению делятся на нагнетательные и наблюдательные. Наблюдательные скважины используются для контроля за влиянием на недра и территории, расположенные примерно в 8–10 км от линз в направлении сброса. В настоящее время в подземные пласты закачивается около 30 тыс. м³ низкоактивных и еще 5 тыс. м³ среднеактивных отходов [7].

На территории преобладают горно-таежные неподзолистые кислые почвы, в долинах рек наиболее распространены дерново-подзолистые почвы на рыхлых отложениях. Растительный покров типичен для таежного низкогорного ландшафта. В долине реки Енисей на высоких террасах произрастают березовые рощи, на низких песчаных террасах – сосновые леса. На водоразделах преобладают смешанные леса, во многих узких долинах – темнохвойные леса (рисунок 1).



- 1) границы полигона «Северный»;
- 2) санитарно-защитная зона ГХК.

Рисунок 1 – Карта полигона «Северный»

Объектами исследования являлись: лесная флора (деревья (ветви, листья, хвоя), кустарники (ветви и листья), травы (все растение) и т. д.), почвы, донные отложения, вода из водоисточников различного происхождения и осадки – снег. Геоботанические описания изученных биоценозов выявили 15 видов лишайников, 21 вид мхов и более 150 видов сосудистых растений.

2.2. Методики.

Для изотопного анализа урана и тория требовалось одновременное концентрирование радионуклидов из больших объемов воды (100 литров). Для этого использовался метод соосаждения урана и тория с гидроксидом железа. Детальный метод описан в работе [9]. Химический выход в этих условиях составил (74 ± 5) % для урана и (82 ± 4) % для тория.

Пробы растений отбирались в непосредственной близости от почвенных разрезов для комплексного изучения отдельных компонентов биогеоценозов. Наиболее распространенные виды растений

анализировались с помощью радиохимического анализа. При отборе проб мхов и лишайников особое внимание уделялось чистоте материала: для анализа брались только те части, которые не были загрязнены минеральными частицами. Сырая масса проб достигала 3–4 кг. Древесные и кустарниковые растения при отборе проб в основном разделялись на части (листья, хвоя, кора, ветви, корни). Большая часть растительного материала в зависимости от видовых особенностей озолялась при температуре 300–600 °С.

Пробы донных отложений отбирались с помощью пробоотборника с длиной трубы 1 метр и диаметром 10 см. Кроме того, для отбора проб донных отложений в прибрежной зоне использовался совок или лопата. Пробы почвы отбирались шурфовым методом совковой лопатой.

Образцы почвы отбирались в разрезах и приямках снизу вверх, чтобы избежать радиоактивного загрязнения недр. Собранные образцы почвы высушивались до воздушно-сухого состояния, затем измельчались и просеивались через сито с диаметром отверстий 1 мм. Образцы весом от 30 до 50 г отбирались путем квартования, затем их прокаливали при температуре от 300 до 600 °С, а затем измельчались в порошок.

2.3. Методы исследования.

Содержание трития в почве и растительном материале определялось после выделения жидкости из исследуемых образцов по методике, разработанной Л. Г. Бондаревой, которая описана в ряде публикаций [8–10]. Приготовленные растворы измерялись с помощью низкофонового альфа-бета-радиометра Quantuluse 1200. Содержание изотопов урана и тория определялось методом масс-спектрометрии после «мокрого сжигания» растительных образцов. Методика пробоподготовки описана в работе [9]. Содержание ^{137}Cs и ^{40}K в растительном сырье и почвах после предварительного озоления образцов определялось методом гамма-спектрометрии. Содержание радионуклидов в «обменной-необменной» формах определялось после последовательного химического фракционирования по методу, описанному в работах [2, 4, 9]. Содержание других элементов, в том числе урана и тория, определялось методом масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой.

Результаты проверялись статистически с использованием пакета программ Statistica 12. Статистические переменные включали среднее значение, стандартное отклонение, минимум, максимум и коэффициент вариации (CV %). Различия между средними значениями анализировались с помощью ANOVA при уровне значимости 0,05.

Результаты и их обсуждение

3.1. Описание визуальных наблюдений на исследуемых территориях.

В настоящий момент наблюдается развитие трех ярусов сообщества: кустарникового, травяно-кустарничкового и мохово-лишайникового. Полученные нами результаты показали, что в зависимости от особенностей микро- и мезорельефа наблюдается дифференциация вторичных сообществ по факторам среды, среди которых наиболее значимыми являются условия увлажнения, аэрации и дренажа.

Исследованные участки характеризовались местами тектонических нарушений или зонами тектонической слоистости, поэтому для них был характерен сложный состав пород. Быстрое изменение условий в пределах небольшой территории объясняет преобладание почв, в которых признаки, присущие различным типам почвообразования, объединены и сглажены, что затруднило их диагностику.

Для большинства изученных типов почв характерны слабая дифференциация почвенного профиля и отсутствие биологической аккумуляции элементов в верхних органогенных горизонтах, за исключением P_2O_5 . Обеднение верхних горизонтов оксидами железа и алюминия свидетельствует о наличии аллювиального процесса. В верхних горизонтах также снижается содержание оксидов кальция, магния и калия, что свидетельствует о разрушении первичных минералов, в том числе полевого шпата. Несмотря на разнообразие типов почв, величина молекулярного отношения $\text{SiO}_2:\text{Fe}_2\text{O}_3$ практически повсеместно варьировала в одних и тех же узких пределах. Это может свидетельствовать о идентичности процессов выветривания и почвообразования, преобладающих на исследуемых территориях.

3.2. Содержание радионуклидов в исследуемых компонентах.

Пробы снежного покрова были отобраны в ряде мест в пределах исследуемой территории: по руслу реки Большая Тель (правый и левый берега) и между руслами рек Большая Тель и Кан. Для сравнения были отобраны пробы снежного покрова с близлежащих островов реки Енисей (остров Атамановский и остров Березовый), а также в окрестностях деревень Атаманово и Хлоптуново (расположены на левом берегу реки Енисей), деревни Большой Балчуг (расположена на правом берегу реки Енисей), расположенных в ближней зоне влияния ГХК, и в г. Красноярске, расположенном выше по течению от ГХК (рисунок 2).

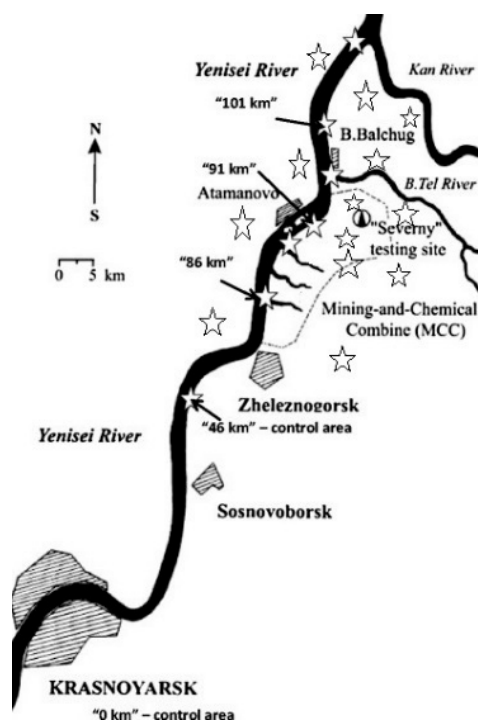


Рисунок 2 – Схематическая карта отбора проб снега

Полученные результаты по содержанию трития, ^{137}Cs и некоторых металлов (Cd, Cu, U, Th) в растворенной форме (талые воды) и во взвешенном состоянии (твердый остаток снега) представлены в таблице 1. Расчеты приведены на квадратный метр.

Как видно из представленных результатов, полученные различия в содержании оцениваемых радионуклидов (трития и ^{137}Cs) связаны с техногенной нагрузкой на исследуемые территории, которая в основном обусловлена деятельностью Горно-химического комбината [11, 12]. Отмечены незначительные различия в значениях, зафиксированных на территориях, и они находятся в пределах значений, зафиксированных по многолетним наблюдениям систем Росгидромета.

Исследованные пробы воды были разделены на три группы по происхождению: ручьи, родники, мочажины (образованные дождевыми и талыми водами) и реки. По составу пробы воды относились к гидрокарбонатно-натриевому типу. Содержание минеральных веществ в пробах составило сотые доли грамма на литр (0,074–0,087 г/л), pH – от 7 до 8. Для всех источников воды были характерны положительные значения окислительно-восстановительного потенциала (от +250 мВ до +415 мВ). Эти данные могут свидетельствовать о том, что пробы воды происходят из зоны активного водообмена.

Таблица 1 – Содержание ^3H , ^{137}Cs , урана, тория, кадмия и меди в пробах снежного покрова (отобранных в марте 2021 г.) на единицу площади

Пункт отбора	Радионуклиды, Бк/м ²		Металлы, мг/м ² (таялая вода / взвешенное вещество снега)			
	$^3\text{H} \times 10^{3*}$	$^{137}\text{Cs}^{**}$	Cd	Cu	U	Th
Река Енисей						
Красноярск	14–16	154–178	0,36/1,6	7,9/100	0,29/23	0,07/18
Атаманово	27–35	175–189	0,36/1,8	11/95	0,92/26	0,07/21
Хлоптуново	28–41	184–228	0,53/2,0	7,2/100	0,24/30	0,04/20
Большой Балчуг	53–64	154–183	0,27/1,3	12,6/150	0,39/34	0,18/19
о. Атамановский	68–73	204–245	1,51/2,2	14,6/110	0,39/30	0,21/15
о. Березовый	38–44	201–215	0,09/1,0	7,1/100	0,55/15	0,08/17
Реки						
Кан	29–53	198–210	0,34/0,7	3,1/22,7	0,69/42	0,12/4,1
Большая Тель	18–31	199–213	0,39/2,4	4,2/61	6,5/251	0,16/98
* содержание ^3H в талой воде;						
** содержание ^{137}Cs во взвешенном веществе снега.						

Средняя концентрация общего урана в окружающей воде составляет $1,4 \times 10^{-6}$ г/л, максимальное значение составляет $2,5 \times 10^{-6}$ г/л. Концентрация общего тория в окружающей воде варьируется от $3,5 \times 10^{-7}$ до $0,8 \times 10^{-8}$ г/л.

Незначительно повышенное содержание тория в образцах окружающей воды потребовало предварительной оценки возможности видообразования. Для этого были проведены полевые исследования с использованием ионообменных смол. Во всех образцах были обнаружены как катионные, так и анионные растворимые формы урана и тория. Катионные формы радиоактивных элементов преобладали в половине образцов. В остальных доля обеих форм была примерно одинаковой.

Водная миграция радионуклидов всегда ограничена вероятностью удержания их в донных отложениях, особенно в составе органических веществ. В этой связи были изучены илисто-торфяные отложения болот, образовавшиеся на заболоченных склонах в районе выходов родников. Они содержали большое количество плохо разложившихся растительных остатков и имели зольность от 16 до 22 процентов. Установлено, что распределение урана и тория в слоях отложения болот было неоднозначным. Например, в слое на глубине 7–10 см содержание ^{232}Th составило $11,6 \times 10^{-5}$ г/г, тогда как в верхнем слое (1–7 см) и нижнем слое (10–13 см) этого же образца содержание тория было существенно меньше. При этом содержание урана в этом образце было практически одинаковым.

В таблице 2 приведены примерные значения запасов некоторых радионуклидов, присутствующих в образцах растительности на единицу площади в зависимости от доли того или иного типа растительности (правобережье Енисея, территория ~ 140 км²). Для анализа использовались целые растения после удаления частиц почвы. Растительный материал отбирался в пределах квадратного метра, а частота отбора проб составляла 100 шагов. После отбора проб растения сортировались по видам и определялось среднее распределение по видам. Листва на ветвях отбиралась с нижнего, среднего и верхнего ярусов кустов.

Таблица 2 – Соотношение основных типов растительности (без учета деревьев) и содержание некоторых радионуклидов

Вид	% массы	Радионуклиды, Бк/м ²				
		³ H	⁴⁰ K	¹³⁷ Cs	²³² Th	²³⁸ U
Всего на м ²	100	23 ± 5	3158 ± 263	3116 ± 309	197 ± 11	1089 ± 61
Кустарники	35	14 ± 2	3124 ± 132	2135 ± 273	135 ± 52	897 ± 28
Осоко-злаковые	20	29 ± 6	2989 ± 235	2578 ± 354	108 ± 31	1037 ± 132
Пижма и Салли цветущая	20	14 ± 5	2759 ± 312	2895 ± 237	209 ± 54	879 ± 31
Мхи и лишайники	25	39 ± 10	3659 ± 431	5098 ± 432	345 ± 42	1567 ± 76

Полученные результаты позволяют рассчитать запасы некоторых радионуклидов на территории, входящей частично в санитарно-защитную зону (далее – СЗЗ) полигона «Северный», а также на территории, прилегающей к полигону.

Полученные измерения не выявили существенных различий в содержании трития, ^{137}Cs и ^{40}K , а также в суммарном содержании изотопов тория и урана на территории СЗЗ полигона «Северный» и за его пределами.

По предварительным результатам, никаких отклонений в пределах обследованной территории не выявлено. Сопоставление полученных данных о радиационном состоянии СЗЗ полигона «Северный» и других территорий по всей акватории реки Енисей [6, 9, 10] нестандартных и критических ситуаций не выявило. Уровень радиации находится в рамках, установленных нормативами Росгидромета и Роспотребнадзора, т. е. не превышает 50 микрорентген в час (0,5 микрозиверт в час).

Заключение. При проведении исследований по оценке потенциального существования аномалий в виде повышенного радиационного фона в районе санитарно-защитной зоны полигона «Северный» Горно-химического комбината Госкорпорации «Росатом» не выявили каких-либо аномалий. Измерения содержания трития, ^{137}Cs и ^{40}K , а также суммарного содержания изотопов тория и урана как в СЗЗ, так и на прилегающих территориях не имели критических значений и находились в пределах допустимых норм для предприятий ядерного топливного цикла. Тем самым было сделано заключение о безопасном функционировании полигона «Северный» для населения, проживающего в непосредственной близости от полигона, так и для жителей Красноярского края и РФ в целом.

Литература

1. Об оценке вклада реки Енисей в общее радиоактивное загрязнение Карского моря / Ю. В. Кузнецов, Ю. А. Ревенко, В. К. Легин [и др.] // Радиохимия. – 1994. – Т. 36, № 6. – С. 546–559.
2. Transport and distribution of artificial gamma-emitting radionuclides in the River Yenisei and its sediment / T. Semizhon, S. Röllin, Y. Spasova, E. Klemt // Journal of Environmental Radioactivity. – 2010. – Vol. 101, № 5. – P. 385–402.
3. Radioactive contamination of the Yenisei River / S. M. Vakulovsky, I. I. Kryshev, A. I. Nikitin [et al.] // Journal of Environmental Radioactivity. – 1995. – Vol. 29, № 3. – P. 225–236.
4. Bolsunovsky, A. Actinides and other radionuclides in sediments and submerged plants of the Yenisei River / A. Bolsunovsky, L. Bondareva // Journal of Alloys and Compounds. – 2007. – Vol. 444–445. – P. 495–499.
5. Закономерности распределения и миграции радионуклидов в долине реки Енисей / под ред. Ф. В. Сухорукова, А. Г. Дегерменджи, В. М. Белолипецкого. – Новосибирск : Изд-во СО РАН. Фил. «Гео», 2004. – 286 с.
6. Распределение техногенных радионуклидов в аллювиальных отложениях и фракциях почв в ближней зоне Красноярского ГХК / В. Г. Линник, А. Г. Волосов, Е. М. Коробова [и др.] // Радиохимия. – 2004. – Т. 46, № 5. – С. 471–476.
7. Глубинное захоронение жидких радиоактивных отходов / А. И. Рыбальченко, М. К. Пименов, П. П. Костин [и др.] – М. : ИздАТ, 1994. – 256 с.
8. Тритий. Теория, практика, последствия / Л. Г. Бондарева, М. Я. Чеботина, С. Ю. Артамонова, И. Г. Тананаев. – Апатиты : Изд-во Кольского науч. центра, 2024. – 360 с.
9. Ракитский, В. Н. Научное обоснование закономерностей и механизмов антропогенного воздействия на биоценоз пресноводной экосистемы / В. Н. Ракитский, Л. Г. Бондарева, Н. Е. Федорова. – Красноярск : Сиб. федер. ун-т, 2020. – 236 с.
10. Патент на пром. образец RU 140597, МКПО 19-07. Схема «Алгоритм определения трития в биологических объектах животного и растительного происхождения с последующим использованием в оценке риска здоровья населения» : № 2023504573 : заявлено 13.09.2023 : опублик. 15.02.2024 / Кузьмин С. В., Федорова Н. Е., Бондарева Л. Г. ; заявитель Федер. науч. центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана». – URL: <https://www.fips.ru/publication-web/publications/document?type=doc&tab=PO&id=B226D2E8-0FC4-4044-ACDB-4D4557276AE3> (дата обращения: 01.10.2024).
11. A comparative study of biota and sediments as monitors of plutonium in the Yenisei River (Siberia, Russia) / T. A. Zotina, M. S. Melgunov, D. V. Dementyev [et al.] // Journal of Environmental Radioactivity. – 2021. – Vol. 237. – P. 106723. – DOI: 10.1016/j.jenvrad.2021.106723.
12. Bondareva, L. The effect of humic substances on metal migration at the border of sediment and water flow / L. Bondareva, N. Fedorova // Environmental Research. – 2020. – Vol. 190. – P. 109985. – DOI: 10.1016/j.envres.2020.109985.

Bondareva L. G., Tananaev I. G.¹

SEVERNY DISPOSAL SITE FOR LIQUID RADIOACTIVE WASTE FROM A MINING AND CHEMICAL PLANT (RUSSIA) ASSESSMENT OF POTENTIAL RISKS TO THE POPULATION

Federal Budgetary Establishment of Science «Federal Scientific Center of Hygiene named after F. F. Erisman» of the Federal Service for Surveillance on Consumer Protection and Human Wellbeing, Mytishchi, Russia

¹ Tananaev Institute of Chemistry – Subdivision of the Federal Research Centre «Kola Science Centre of the Russian Academy of Sciences» Science Centre of Russian Academy of Sciences, Apatity, Russia

The sanitary protection zone of the Severny disposal site was investigated, over an area of more than 140 km². The work uses data obtained during monitoring using geomorphological, descriptive, chemical and physicochemical methods of detection and preliminary preparation of samples for analysis. The most common plant species were studied. The research objects included water, soil, bottom sediments and plants of various types. The most common plant species were studied with an assessment of their physiological state and their level of radionuclide content. It was revealed that the studied plant species were substantially affected by the accumulation of radionuclides such as ⁴⁰K, ¹³⁷Cs, ²³²Th and ²³⁸U. The average concentration of uranium in the considered water sources was 1.4×10^{-6} g/L, with the maximum value reaching 2.5×10^{-6} g/L. The concentration of thorium in the ambient water varied from 3.5×10^{-7} to 0.8×10^{-8} g/L. Insignificant differences in the radionuclide content (³H, ¹³⁷Cs) and some metals in the snow cover during the observation period were

mainly associated with man-made impacts on the environments studied. Thus, based on the preliminary results, no abnormalities were detected within the studied area. The operation of the Severny disposal site does not contribute to the negative radiation impact, either in the Krasnoyarsk Region or in the Russian Federation as a whole. Thus, no threat to the population of the region from the operation of the liquid radioactive waste landfill was identified.

Keywords: radioactive waste, landfill, environmental risks, population.

References

1. Kuznetsov Yu. V., Revenko Yu. A., Legin V. K. et al. On estimating the contribution of the Enisei River to the overall radioactive contamination of the Kara Sea. *Radiochemistry*. 1994; 36(6): 546–59. (in Russian)
2. Semizhon T., Röllin S., Spasova Y., Klemt E. Transport and distribution of artificial gamma-emitting radionuclides in the River Yenisei and its sediment. *J Environ Radioact*. 2010; 101(5): 385–402.
3. Vakulovsky S. M., Kryshev I. I., Nikitin A. I. et al. Radioactive contamination of the Yenisei River. *J Environ Radioact*. 1995; 29(3): 225–36.
4. Bolsunovsky A., Bondareva L. Actinides and other radionuclides in sediments and submerged plants of the Yenisei River. *J Alloys Compd*. 2007; 444–445: 495–9.
5. Sukhorukov F. V., Degermendzhi A. G., Belolipetsky V. M. et al. *Patterns of distribution and migration of radionuclides in the Yenisei River valley*. Novosibirsk: Izd-vo SO RAN. Fil. «Geo»; 2004. (in Russian)
6. Linnik V. G., Volosov A. G., Korobova E. M. et al. Distribution of technogenic radionuclides in alluvial deposits and soil fractions in the near zone of the Krasnoyarsk Mining and Chemical Combine. *Radiochemistry*. 2004; 46(5): 471–6. (in Russian)
7. Rybalchenko A. I., Pimenov M. K., Kostin P. P. et al. *Deep burial of liquid radioactive waste*. M.: IzdAT; 1994. (in Russian)
8. Bondareva L. G., Chebotina M. Ya., Artamonova S. Yu., Tananaev I. G. *Tritium. Theory, practice, consequences*. Apatity: Izd-vo Kolskogo nauch. tsentra; 2024. (in Russian)
9. Rakitsky V. N., Bondareva L. G., Fedorova N. E. *Scientific substantiation of patterns and mechanisms of anthropogenic impact on the biocenosis of a freshwater ecosystem*. Krasnoyarsk: Sib. feder. un-t; 2020. (in Russian)
10. Kuz'min S. V., Fedorova N. E., Bondareva L. G. Scheme «Algorithm for determining tritium in biological objects of animal and plant origin with subsequent use in assessing the risk to public health». Patent na prom. obrazec RU 140597, МКРО 19-07. Available at: <https://www.fips.ru/publication-web/publications/document?type=doc&tab=PO&id=B226D2E8-0FC4-4044-ACDB-4D4557276AE3> (accessed 1 October 2024). (in Russian)
11. Zotina T. A., Melgunov M. S., Dementyev D. V. et al. A comparative study of biota and sediments as monitors of plutonium in the Yenisei River (Siberia, Russia). *J Environ Radioact*. 2021; 237: 106723. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2021.106723.
12. Bondareva L., Fedorova N. The effect of humic substances on metal migration at the border of sediment and water flow. *Environ Res*. 2020; 190: 109985. DOI: 10.1016/j.envres.2020.109985

e-mail для переписки: lydiabondareva@gmail.com

Поступила 01.10.2024

УДК 614.876-047.36:621.039.5

Киселев С. М., Шлыгин В. В., Зозуль Ю. Н., Ахромеев С. В., Болотник Н. Ф.

ИНТЕГРАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКОЙ ОБСТАНОВКИ В РАЙОНАХ РАСПОЛОЖЕНИЯ ОБЪЕКТОВ ЯДЕРНОГО НАСЛЕДИЯ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна», г. Москва, Россия

Аннотация. Объекты ядерного наследия характеризуются многофакторным загрязнением окружающей среды, включая вещества как радиационной, так и не радиационной природы. В настоящей

работе предложен подход к комплексной оценке состояния загрязнения окружающей среды с применением интегрального индекса загрязнения. Данный индикатор представляет собой усредненный показатель «кратности загрязнения» данного объекта окружающей среды на изучаемой территории по сравнению с фоновыми показателями с учетом гигиенической значимости каждого загрязняющего вещества. Для оценки степени загрязнения объектов окружающей среды (воздух, грунт, вода) разработан подход к ранжированию интегрального индекса загрязнения в разных средах. С использованием разработанного подхода представлена эколого-гигиеническая характеристика территорий расположения объектов ядерного наследия и близлежащих территорий.

Ключевые слова: интегральный индекс загрязнения, окружающая среда, ядерное наследие, радионуклиды, токсичные металлы.

Введение. В 60-х годах XX столетия были созданы береговые технические базы Военно-Морского Флота (далее – ВМФ), предназначенные для временного хранения отработавшего ядерного топлива (далее – ОЯТ) и радиоактивных отходов (далее – РАО) после перезарядки реакторов атомных подводных лодок. В связи с истечением срока эксплуатации атомных подводных лодок ВМФ и в связи с международными обязательствами по сокращению вооружений с конца 80-х годов прошлого века начался интенсивный вывод из эксплуатации. Решение проблем с накопленным ядерным наследием сопряжено с реализацией широкого спектра технологических операций, включающих выгрузку отработавшего ядерного топлива из реакторов утилизируемых лодок и аварийных хранилищ, сбор, сортировку и кондиционирование твердых и жидких радиоактивных отходов, разделку корпусных частей атомных подводных лодок, подготовку блок-упаковок реакторных отсеков и их размещение на площадках долговременного хранения. Отсутствие надлежащего обслуживания инфраструктуры хранилищ ОЯТ и РАО после окончания срока эксплуатации береговых технических баз привело к деградации защитных барьеров и распространению загрязнения в окружающую среду. Согласно современному международному подходу, загрязненные территории в результате нерегулируемой в прошлом военной деятельности выделены в особую категорию и называются объектами ядерного наследия. Многофакторный характер загрязнения объектов ядерного наследия предполагает необходимость совершенствования подходов к оценке состояния природной среды. Основываясь на накопленном опыте, в настоящей работе нами впервые предложен комплексный подход к эколого-гигиенической оценке территорий расположения объектов ядерного наследия.

Цель работы – разработка и апробация нового подхода к комплексной эколого-гигиенической оценке территорий расположения объектов ядерного наследия в условиях сочетанного загрязнения радионуклидами и химическими веществами.

Материалы и методы. Интегральный индекс загрязнения [1] рассчитывается по следующей формуле (1):

$$K = \frac{\sum_{i=1}^n \left(\frac{X_i}{Norm_i} \right)^{w_i}}{\sum_{i=1}^n \left(\frac{X_{\phi i}}{Norm_i} \right)^{w_i}}, \quad (1)$$

где K – интегральный индекс загрязнения данного объекта окружающей среды на изучаемой территории;

n – количество загрязняющих веществ, по которым строится интегральный показатель;

i – порядковый номер данного контаминанта в списке из n загрязняющих веществ;

$Norm$ – количественный показатель гигиенической значимости, установленный для контаминанта (i) в нормативных документах [2];

X_i – медианное значение массовой концентрации или удельной активности i -го контаминанта на изучаемой территории;

$X_{\phi i}$ – медианное значение массовой концентрации или удельной активности i -го контаминанта в фоновом районе;

w_i – весовой коэффициент для i -го контаминанта.

Для эффективного применения интегрального показателя важен адекватный выбор загрязняющих веществ. Выбор контаминантов основывается на качественном и количественном анализе

выбросов и сбросов исследуемых объектов, а также результатов скрининговых обследований, уточняющих или конкретизирующих характер загрязнения исследуемых объектов.

При выборе химических загрязнителей руководствовались требованиями действующих нормативных документов, учитывая следующий порядок приоритетности:

в первом приоритете – вещества, загрязнение по которым охарактеризовано как экстремально высокое;

во втором приоритете – вещества, загрязнение по которым охарактеризовано как высокое;

в третьем приоритете – вещества, по которым есть превышения гигиенических нормативов;

в четвертом приоритете – все остальные вещества с концентрациями, максимально близкими к гигиеническим нормативам.

Для радионуклидов в качестве приоритетных следует выбрать те, у которых отношение концентрация в окружающей среде/гигиенический норматив является максимальным.

Результаты и их обсуждение. На основе предложенного интегрального индекса загрязнения проведена оценка состояния загрязнения окружающей среды контаминантами радиационной и не радиационной природы в районах расположения бывших береговых технических баз ВМФ России, а ныне объектов ядерного наследия в северо-западном и дальневосточном регионах.

Исследуемые объекты характеризуются сходным профилем производственной деятельности и характером загрязнения окружающей среды. Интегральную оценку загрязнения окружающей среды поллютантами радиационной и нерадиационной природы проводили по следующим средам: воздух, грунты, подземные воды.

Перечень контаминантов был определен по результатам исследовательского мониторинга на исследуемых объектах и прилегающих территориях [3–5].

В качестве основных загрязнителей подземных вод рассматривались: техногенные радионуклиды – ^{137}Cs и ^{90}Sr , и тяжелые металлы (I–IV класса опасности), включая Be, Cd, Mo, V, W, Co, Cu, Ni, Pb, Zn, Al, Mn, Sr.

В качестве основных загрязнителей почв и грунтов – техногенные радионуклиды – ^{137}Cs и ^{90}Sr , ^{60}Co и тяжелые металлы (I–IV класса опасности), включая Cd, V, Cu, Ni, Pb, Zn.

В качестве основных загрязнителей воздушной среды рассматривались основные дозообразующие техногенные радионуклиды ^{137}Cs и ^{90}Sr . Для интегральной оценки химического загрязнения воздушной среды применяли разработанный подход к интегральной оценке потенциального загрязнения на основе данных выбросов и сбросов, официально представленных в экологических отчетах исследуемых предприятий.

Для определения фоновых значений радионуклидов и токсичных металлов использованы данные, полученные в результате собственных исследований.

Для характеристики и оценки значимости состояния загрязнения исследуемых сред в сравнительном аспекте разработан подход к ранжированию интегральных показателей загрязнения, суть которого изложена ниже.

В общем случае наличие загрязнения доказано, когда в пробе обнаружено количество хотя бы одного загрязняющего вещества, выходящее за пределы нормативного диапазона (чаще всего – превышающее нормативное значение). Смоделировав исходную матрицу данных и руководствуясь принципом консервативности, можно оценить расчетные значения K_{int}^{cryt} , характерные для загрязненных проб. Тогда показатель K_{int}^{cryt} может быть рассчитан по формуле (2):

$$K_{int}^{cryt} = \min_{i=1}^n (K_{int}(i)), \quad (2)$$

$$\text{при } X_i = \text{Norm}_i \text{ и } X_{j;j \neq i} = \text{Фон}_{j;j \neq i}; \text{ Фон}_{j;j \neq i} \leq 0,5 \times \text{Norm}_{j;j \neq i},$$

где K_{int}^{cryt} – критический уровень коэффициента K_{int} при возможном наличии загрязнения;

n – количество (длина списка) загрязняющих веществ, учтенных в расчетах K_{int} ;

i – порядковый номер загрязняющего вещества в списке;

\min – функция минимума;

X – массовая концентрация (удельная активность) загрязняющего вещества;

Norm – нормативное значение массовой концентрации (удельной активности) загрязняющего вещества;

Фон – средний фоновый уровень массовой концентрации (удельной активности) загрязняющего вещества.

Данный подход дает максимально консервативную оценку коэффициента K_{int} , при которой возможно наличие загрязнения.

Следует отметить, что конкретные граничные значения коэффициентов K_{int} будут зависеть от перечня основных загрязняющих веществ и фоновых уровней, характерных для данной местности. Расчетные граничные значения K_{int} , приведенные в таблице 1, основаны на обширных массивах фактических данных измерений, приуроченных к радиационно-опасным объектам на территории Мурманской области, Камчатском и Приморском крае.

Таблица 1 – Градация уровней загрязненности различных сред по K_{int}

№	Степень загрязнения	Радиационный фактор			Химический фактор	
		МАЭД	вода	почва	вода ¹⁾	почва
1	Фоновая	$K_{int} \leq 1,0$ (на уровне фона и ниже)				
2	Безопасная (приемлемая или допустимая)	$1,0 < K_{int} \leq 1,0E+2$ (до 20 мЗв в год, норматив перс. гр. А)	$1,0 < K_{int} \leq 1,2E+3$ (до УВ)	$1,0 < K_{int} \leq 19$ (до $A_{ни}$)	$1,0 < K_{int} \leq 1,5$ $1,0 < K_{int} \leq 1,4$ $1,0 < K_{int} \leq 1,6$ (до ПДК)	$1,0 < K_{int} \leq 1,3$ (до ПДК)
3	Опасная	$1,0E+2 < K_{int} \leq 5,5E+2$ (до 100 мЗв в год, ур. спец. разрешения)	$1,2E+3 < K_{int} \leq 1,2E+5$ (от УВ до ЖРО)	$19 < K_{int} \leq 1,9E+3$ (от $A_{ни}$ до ТРО)	$1,5 < K_{int} \leq 7,2$ $1,4 < K_{int} \leq 6,3$ $1,6 < K_{int} \leq 9,1$ (от ПДК до ЭВЗ)	$1,3 < K_{int} \leq 19$ (от ПДК до ЭВЗ)
4	Чрезвычайно опасная	$K_{int} > 5,5E+2$ (более 100 мЗв в год, ур. спец. разрешения)	$K_{int} > 1,2E+5$ (отнесение к ЖРО)	$K_{int} > 1,9E+3$ (отнесение к ТРО)	$K_{int} > 7,2$ $K_{int} > 6,3$ $K_{int} > 9,1$ (ЭВЗ и отнесение к пром. отходам)	$K_{int} > 19$ (ЭВЗ и отнесение к пром. отходам)

¹⁾ верхняя строка – для воды водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования; вторая строка – для пресной воды водных объектов рыбохозяйственного водопользования; третья – для морской воды.

Примечания:
 1) УВ – уровень вмешательства [2];
 2) $A_{ни}$ – уровень неограниченного использования материалов в хозяйственной деятельности [2];
 3) ПДК – предельно допустимая концентрация (для химических веществ);
 4) ЖРО – жидкие радиоактивные отходы [2];
 5) ТРО – твердые радиоактивные отходы [2];
 6) ЭВЗ – экстремально высокое загрязнение (для химических веществ).

Сравнительная оценка эколого-гигиенической обстановки на объектах ядерного наследия.

Распределение интегральных показателей загрязнения по мощности дозы гамма-излучения на исследуемых объектах показывает, что характерной особенностью сложившейся обстановки является значительная гетерогенность распределения полей гамма-излучения на промышленных площадках исследуемых объектов, которая определяется преимущественно характером и интенсивностью работ по обращению с радиоактивными отходами при восстановлении загрязненных территорий, а также наличием локально загрязненных участков территории, образовавшихся в результате прошлой деятельности. При этом участки с высокой мощностью дозы гамма-излучения, относящиеся согласно представленной классификации к категориям опасная и чрезвычайно опасная, занимают 0,1–1 % территории.

Состояние загрязнения грунтов по радиационному фактору на исследуемых площадках достаточно однородно, значение интегрального показателя загрязнения соответствует категории «опасный», определяя содержание техногенных радионуклидов на уровне промышленных отходов. Химическое загрязнение грунтов характеризуется более широкими качественными и количественными показателями. Уровень интегрального показателя химического загрязнения достигает значений «чрезвычайно опасное», которое определяет состояние загрязнения грунтов как токсичные отходы.

Состояние загрязнения подземных вод, как и грунтов на промышленных площадках определяется преимущественно химическим загрязнением токсичными металлами. На всех объектах обнаруживается загрязнение водной среды на уровне «чрезвычайно опасное».

Качество окружающей среды в санитарно-защитных зонах исследуемых объектов характеризуется показателями интегрального загрязнения исследуемых сред, относящимися к категориям фонового

и безопасного уровня как по радиационному, так и по химическому факторам. В целом подобная картина сохраняется и на территориях проживания населения, однако доля фоновых и безопасных уровней загрязнения составляет более 80 % территорий. Загрязнение селитебных территорий токсичными металлами характеризуется локальными участками и определяется преимущественно выхлопами автомобильного транспорта и скоплением металлолома в районах проживания населения.

Заключение. В настоящей работе впервые предложен и апробирован на практике подход к оценке качества окружающей среды в районах расположения объектов ядерного наследия в условиях комплексного воздействия факторов радиационной и не радиационной природы на основе применения интегрального индекса загрязнения. Интегральный индекс загрязнения универсален и может быть использован в сравнительном анализе влияния производственной деятельности различных предприятий на окружающую среду, а также при оценке динамики изменения воздействия предприятия на окружающую среду на различных этапах производственного цикла. Единообразие методики расчетов позволяет нивелировать влияние различной номенклатуры загрязняющих веществ при условии достаточности их списка для анализа ситуации.

Литература

1. Разработка интегрального подхода к оценке эколого-гигиенической обстановки в районах расположения радиационно опасных объектов / В. В. Шлыгин, С. М. Киселев, Ю. Н. Зозуль, С. В. Ахромеев // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены ; редкол.: С. И. Сычик (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2023. – Вып. 33. – С. 64–69.

2. СанПиН 2.6.1.2523-09. Нормы радиационной безопасности НРБ-99/2009 : утв. постановлением Гл. гос. санитар. врача Рос. Федерации от 7 июля 2009 г. № 47 // Информационно-правовое обеспечение «Гарант». – URL: <http://ivo.garant.ru/#/document/4188851/paragraph/12:2> (дата обращения: 19.05.2022).

3. Radiation safety during remediation of the SevRAO facilities: 10 years of regulatory experience / M. K. Sneve, N. Shandala, S. Kiselev [et al.] // *Journal of Radiological Protection*. – 2015. – Vol. 35, № 3. – P. 571–596.

4. Шандала, Н. К. Научно-практический опыт надзорной деятельности в области обеспечения защиты населения и окружающей среды на объектах ядерного наследия России / Н. К. Шандала, С. М. Киселев, А. В. Титов // *Радиационная гигиена*. – 2019. – Т. 12, № 2, спецвып. – С. 83–96.

5. Исследование радиационной обстановки на объектах ядерного наследия в Дальневосточном регионе России / С. В. Ахромеев, С. М. Киселев, А. В. Титов [и др.] // *АНРИ*. – 2016. – № 1. – С. 65–71.

Kiselev S. M., Shlygin V. V., Zozul Y. N., Akhromeev S. V., Bolotnik N. F.

A COMPREHENSIVE EVALUATION OF THE ENVIRONMENTAL POLLUTION IN THE VICINITY OF NUCLEAR LEGACY SITES

State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Medical Biological Agency, Moscow, Russia

Nuclear legacy sites are characterized by the presence of multiple environmental pollutants, including both radioactive and non-radioactive substances. The paper proposes a comprehensive approach to assessing environmental pollution using an integral pollution index. This indicator provides an averaged assessment of the multiplicity of pollution affecting an environmental object relative to background levels, with consideration given to the hygienic significance of each pollutant. To assess the degree of pollution of natural environments (air, soil, water), we have developed a universal approach to scaling the integral pollution index in different environments. Used developed approach, we assessed the environmental impact of the nuclear legacy sites on adjacent areas.

Keywords: integral pollution index, environment, nuclear legacy, artificial radionuclides, toxic metals.

References

1. Shlygin V. V., Kiselev S. M., Zozul Yu. N., Akhromeev S. V. Development of an integrated approach to assessing the environmental and hygienic situation in areas where radiation hazardous facilities are located. In: Sychik S. I., chief ed. et al. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda (Health and environment)* : sb. nauch. tr. Iss. 33. Minsk; 2023: 64–9. (in Russian)

2. SanPiN 2.6.1.2523–09. Radiation Safety Standards NRB-99/2009. Moscow; 2009. Available at: <http://ivo.garant.ru/#/document/4188851/paragraph/12:2> (accessed 19 May 2022). (in Russian)

3. Sneve M. K., Shandala N., Kiselev S. et al. Radiation safety during remediation of the SevRAO facilities: 10 years of regulatory experience. *J Radiol Prot.* 2015; 35(3): 571–96.

4. Shandala N. K., Kiselev S. M., Titov A. V. Scientific and practical experience of supervisory activities in the field of the public and environmental protection at the Russian nuclear legacy sites. *Rad Hyg.* 2019; 12(2, спецвып.): 83–96. (in Russian)

5. Akhromeev S. V., Kiselev S. M., Titov A. V. et al. Examination of radiation situation at the nuclear legacy sites in the Russian Far East. *ANRI.* 2016; (1): 65–71. (in Russian)

e-mail для переписки: sm_kiselev@mail.ru

Поступила 26.09.2024

УДК 613.6.06:616-036.88:[621.039+622.349.5]

Котеров А. Н., Ушенкова Л. Н., Дибиргаджиев И. Г., Калинина М. В.

СМЕРТНОСТЬ ОТ ВСЕХ ПРИЧИН И ОТ ВСЕХ РАКОВ ДЛЯ РАБОТНИКОВ ЯДЕРНОЙ ИНДУСТРИИ И ШАХТЕРОВ УРАНОВЫХ РУДНИКОВ СРАВНИТЕЛЬНО С НАИБОЛЕЕ ВРЕДНЫМИ/ОПАСНЫМИ ПРОФЕССИЯМИ (СИНТЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр им. А. И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства», г. Москва, Россия

Аннотация. Проведено сравнение индексов стандартизованного отношения смертности по общей смертности и смертности от всех раков для работников ядерной индустрии и шахтеров урановых рудников (подведомственные ФМБА России контингенты) с показателями для занятых на производствах с вредными и/или опасными факторами (тяжелые металлы, пыль, асбест, бета-нафтиламин, рыболовство и др.), а также при пассивном курении. Исследование выполнено для показателей, полученных преимущественно путем мета- или pooled-анализов. Продемонстрирован «Эффект здорового работника» для зарубежных и отечественных работников ядерной индустрии по обоим показателям и слабое превышение общей смертности (на 5 %) для шахтеров урановых рудников. Сравнительно с прочими производствами и пассивным курением выявлена меньшая смертность для работников ядерной индустрии, а применительно к общей смертности, также и для шахтеров урановых рудников.

Полученные данные устраняют представления об особой опасности и вредности работ, связанных с внешним и внутренним облучением, и улучшают имидж занятости в области атомной энергетики.

Ключевые слова: работники ядерной индустрии, шахтеры урановых рудников, стандартизованное отношение смертности, общая смертность, смертность от всех раков, вредные/опасные производства, эффект здорового работника.

Введение. Исследование наиболее вредных профессий было начато еще Гиппократом и впервые реализовалось в статистических таблицах 1851 г. в Великобритании (Registrar-General, 1851; Ogle W., 1855; историческая справка в [1]). В настоящее время рейтинги наиболее вредных/опасных профессий составляются как официальными организациями, так и путем опросов профессионалов, журналистов и населения. К примеру, согласно Роспотребнадзору России, в 2018 г. по показателю заболеваемости (а заболеваемость и смертность в целом связаны [2]) первое место в «антирейтинге» занимала добыча полезных ископаемых (включая шахты), второе – обрабатывающая промышленность, а третье – транспорт и хранение; на пятом было рыболовство, охота, сельское и лесное хозяйство. Аналогичные рейтинги для США (US Bureau of Labor Statistics) на 2022 г. определили первое место для кровельщиков, второе же – для рыболовства и охоты. В десятку вошли также металлурги и механизаторы в шахтах. По другим рейтингам США пилоты и бортинженеры находятся на втором месте, а на третьем – горная и нефтегазовая промышленности, либо на первом месте – шахтеры [3].

Однако помимо официальных «антирейтингов» профессий имеется и общественное, и бытовое восприятие типов занятости, для которого, скажем, рыбаки, транспортники и даже бурильщики вряд ли представляются чрезмерно опасными профессиями, не говоря уже об их вредности. Зато ядерная индустрия (то есть энергетический, оружейный и транспортный ядерные комплексы [4]), а также

урановые рудники, наверняка получат высочайший рейтинг и опасности, и вредности («облучаться», «народятся мутанты», «на урановые рудники»).

Работники ядерной индустрии и шахтеры урановых рудников являются персоналом подведомственных ФМБА России предприятий, в связи с чем анализ их смертности в аспекте рейтингов профессиональной вредности/опасности представляется актуальным.

Ранее нами был проведен мета-анализ смертности от всех причин (далее – all causes) и смертности от всех раков (далее – all cancer) сравнительно с генеральной популяцией (то есть исследование стандартизованного отношения смертности (далее – SMR) [1, 3, 5] для работников ядерной индустрии 15 стран без включения России; этот мета-анализ выявил высокий «Эффект здорового работника» по обоим показателям [6] и намного меньшую смертность, чем у представителей ряда вредных/опасных профессий, включая деревообрабатывающую промышленность, производство хлопка, каучука, химическую индустрию (в целом и по отдельным соединениям), строительство (асбест), угольные шахты, воздействие пыли различной природы, таких тяжелых металлов, как Hg, Cd, Pb и Cu и даже пассивного курения [3, 5, 6]; о различиях этих двух типов синтетических исследований см. далее примечание к таблице 4.

Неохваченными сравнительным исследованием остались среди вредных/опасных профессий, для которых доступны данные о смертности, рыбаки (как отмечалось выше – пятое и второе место по рейтингу опасности в России и США соответственно [3]), шахтеры урановых рудников и, главное, контингент ФМБА России – отечественные работники ядерной индустрии.

Цель – провести синтетическое обзорное исследование индексов SMR all causes и all cancer для работников ядерной индустрии (российских и зарубежных) и шахтеров урановых рудников сравнительно с аналогичными показателями для наиболее вредных/опасных профессий, включая рыбаков, а также при пассивном курении.

Задачей работы при достижении цели являлся поиск данных по SMR, по возможности наиболее высокого эпидемиологического дизайна (то есть результатов мета- или pooled-анализов [7]) для указанных контингентов. Часть мета-анализов выполнена нами ранее [3, 5, 6]; в представленном исследовании к таковым добавлен мета-анализ по SMR для рыбаков различных стран, выполненный впервые.

Материалы и методы.

Для различных профессиональных групп поиск источников по мета- или pooled-анализам SMR all causes и all cancer осуществляли ранее [1, 3, 5, 6] через MEDLINE, PubMed, Cochrane Library (использовалась конструкция [“standardized mortality ratio”/SMR&occupational&meta-analysis]; для поисковых систем мета- и pooled-анализ являются синонимами), Elibrary, в списках литературы обнаруживаемых источников и в поддерживаемой нами базе данных по названным индексам для различных типов занятости (более 700 публикаций) [1].

Для работников ядерной индустрии и шахтеров урановых рудников выборки работ формировали на основе двух других поддерживаемых нами баз данных – по эффектам у работников ядерной индустрии (всего 3704 источника; отдельные суббазы для отечественного и зарубежного контингентов; полные оригиналы на 85 и 88 %) и у шахтеров урановых рудников соответственно (795 источников; полные оригиналы на 76 %) [8, 9].

Для рыбаков поиск исследований, применительно к выполняемому мета-анализу по SMR all causes и all cancer проводили через PubMed (на сочетание [fishermen&“all causes”/“all cancer”]), а также – в списках литературы обнаруженных публикаций и датской диссертации по близким проблемам от 2020 г. [10]. Источников выявилось мало, всего 11 с дублирующими. Поэтому дополнительно осуществляли поиск через Google на сочетание [“fishermen” “all causes”/“all cancer” mortality SMR]. Из первоначально большого числа ссылок в процессе просмотра робот оставил 128 (остальные «очень похожи»). Визуальный анализ показал, что хотя ссылок на смертность рыбаков через Google находится много, почти все они не удовлетворяют принципу отбора – наличию индексов SMR all causes и/или all cancer. Судя по источникам в списках литературы обнаруженных работ на тему, включая названную датскую диссертацию [10], сформированная выборка для мета-анализа оказалась репрезентативной по основным исследованиям.

Мета-анализ (ссылки для положений в представленной ниже методике изложены в работах [3, 6] и в руководстве [11]) выполняли с помощью программы WinPepi (ver. 11.60; J. Abramson; Israel; free). Программа оценивает гетерогенность выборки по коэффициентам ‘Higgins and Thompson’ (H). Показатель *H* менее 1,2 свидетельствует о гомогенности выборки, а свыше 1,5 – о выраженной гетерогенности. Величина *I*² отражает % варианта в выборке, атрибутивных гетерогенности. При наличии

гетерогенности из двух статистических моделей мета-анализа (Fixed-effect и Random-effect) рекомендуется выбирать вторую, что часто и имеет место для медико-биологических исследований.

Модуль программы для мета-анализа требует наличия оценок риска и величины их $\pm 95\%$ доверительных интервалов (confidence interval (далее – CI)) или стандартных ошибок среднего.

Программа WinPeri позволяет рассчитывать $\pm 95\%$ CI для отношения либо частот смертности/инцидентности, либо числа Observed к числу Expected случаев смерти/инцидентов.

С помощью WinPeri есть возможность анализировать и публикационное смещение по 'Regression asymmetry test' для Funnel plot от M. Egger с соавторами; для величины $p < 0,1$ можно говорить о подозрении на указанное смещение.

Объединяющий анализ ('combined analysis', наш термин [3, 5]) состоит в обычной оценке средней тенденции (Mean/Median) и 95% CI (или квартилей) после удаления из выборки выпадающих величин. Применяется тогда, когда для ряда исследований в выборке нет возможности получить значения CI или стандартной ошибки среднего. То есть – нельзя выполнить истинный мета-анализ для всей выборки.

Расчет средних величин и 95% CI при объединяющем анализе проводили с помощью программы Statistica v 10.

Анализ на выпадающие величины из выборки перед выполнением объединяющего анализа или мета-анализа осуществляли по критерию Шовене [12].

Оцифровку графических данных (при отсутствии числовых значений для результатов в одной публикации по SMR у рыбаков) проводили с помощью программы GetData Graph Digitizer, v 2.26.0.20.

Результаты и их обсуждение.

Данные по SMR для отечественных и зарубежных работников ядерной индустрии

Для зарубежного контингента 15 стран (без России) мета-анализ индексов SMR all causes и all cancer, как указано выше, был проведен нами ранее. Кроме того, был обнаружен мета-анализ китайских авторов для SMR all cancer применительно к когортам работников ядерной индустрии из девяти стран, включая занятых на российском предприятии ПО «Маяк» [13].

Для российского персонала применительно к указанному индексу смертности данных мало (поскольку в основном используется показатель относительного риска (далее – RR), то есть сравнение частоты эффекта не с генеральной или региональной популяцией (населением), а с подгруппой таких же работников с наименьшей или отсутствующей экспозицией фактора [1, 3, 5, 6]). Сводка работ, выявленных через упоминавшуюся выше базу данных [8] (точнее – суббазу источников по эффектам у российских работников ядерной индустрии), продемонстрировала наличие данных по SMR только для персонала ПО «Маяк» (оба исследуемых индекса; таблица 1) и Сибирского химического комбината (имеются данные только по SMR all cancer для отдельных групп в зависимости от дозы, но единого показателя для работников в целом нами не обнаружено [15, 16]).

Таблица 1 – Смертность от всех причин и от всех раков сравнительно с генеральной популяцией у персонала ПО «Маяк»

Источник	Начало работы и период прослеживания	SMR (95% CI)
<i>All causes</i>		
Кошурникова Н. А. и др. Радиация и риск. 1995(5):137–44.	1948–1958 гг.; до 1993 г.	Таблица 4: 1,17 (1,12; 1,23); $p < 0,05$
Deltour I, et al. Environ Health. 2015;14:Article 91. 12 p. [14]	Смертность в 1998–2010 гг.	Table 1: SRR* = 0,66 (0,63, 0,69)
<i>All cancer</i>		
Koshurnikova N. A., et al. Sci Total Environ. 1994;142(1–2):19–23.	1948–1958 гг.; до 1989 г.	Table 3: 1,02 (0,91; 1,12)**
Кошурникова Н. А. и др. Радиация и риск. 1995(5):137–44.	1948–1958 гг.; до 1993 г.	Таблица 4: 1,40 (1,26; 1,56); $p < 0,05$
Сокольников М. Э. и др. Вopr. радиац. безопасности. 1997(2):51–7.	1948–1958 гг.; до 1994 г.	Таблица 2: радиохимическое производство: 1,54 (1,21; 1,97); Таблица 3: плутониевое производство: 1,96 (1,45; 2,64)
Shilnikova N. S., et al. Radiat Res 2003;159(6):787–98.	1948–1972 гг.; до 1997 г.	Table 5 (SMR относительно резидентов г. Озерск): 1,34 (1,28; 1,41)***

Источник	Начало работы и период прослеживания	SMR (95% CI)
Кошурникова Н. А. и др. Мед. радиология и радиац. безопасность. 2008;53(3):23–33.	1948–1972 гг.; до 2005 г.	Таблица 10: наем 1948–1958 гг.: 1,1 (1,05; 1,16); наем 1959–1972 гг.: 0,75 (0,67; 0,83)
Deltour I, et al. Environ Health. 2015;14:Article 91. 12 p. [14]	Смертность в 1998–2010 гг.	Table 1: SRR* = 0,86 (0,78; 0,95)
<p>* SRR – отношение стандартизованной по возрасту частоты смертности для работников к соответствующему показателю для населения или другой группы. Близко к индексу SMR;</p> <p>** нами суммированы показатели наблюдаемого и ожидаемого числа смертей для двух когорт и двух производств и рассчитано SMR;</p> <p>*** SMR рассчитано нами по данным для наблюдаемого и ожидаемого числа смертей из оригинала.</p>		

Из представленных в таблице 1 данных следует, что контингент ПО «Маяк», начавший работу в 1940–1950-х гг., внес основной вклад в суммарные величины индексов SMR для обоих показателей смертности и обеспечил его превышение сравнительно с населением, причем порой значительно (в 1,54–1,96 раза для смертности от всех раков). Но для начавших работать уже в самом конце 1950-х гг. и вплоть до 1972 г. (предпоследняя строка в таблице 1) SMR all cancer составляет величину 0,75, причем значение верхнего 95% CI меньше единицы, что указывает на наличие «Эффекта здорового работника» (то есть имеется отличие от контрольной частоты; подробно данная индикация эффекта описана в наших исследованиях [1, 3, 5, 6], а также в руководстве [11].)

Снижение общей смертности и смертности от рака персонала ПО «Маяк» начиная с конца 1990-х гг. получено в наиболее позднем исследовании подобного рода [14], где использовался иной индекс смертности, однако близкий к SMR. Индекс общей смертности сравнительно с населением России был снижен на 34 %, а для смертности от всех раков – на 14 %, причем в обоих случаях имел место «Эффект здорового работника» по названному выше индикатору эффекта.

Видимая из данных в таблице 1 неоднородность и гетерогенность условий и показателей отдельных исследований не позволяет осуществить суммарные синтетические исследования в виде мета- или pooled-анализа. Поэтому для дальнейшего сравнительного анализа использовались показатели SMR для отечественных работников ядерной индустрии из исследования персонала ПО «Маяк» [14].

Мета-анализ и объединяющий анализ величин SMR для рыбаков

Подобное исследование, как уже было сказано, в мире пока не проводилось, хотя профессия рыбаков и занимает первые места по рискам в «антирейтинге» типов занятости в России и США [3]. Таким образом, данная работа имеет определенный самостоятельный интерес в области эпидемиологии профессиональных воздействий, что шире, чем только радиационные дисциплины. Выборка уместных источников оказалась, судя по всему, репрезентативной, поэтому выполненный обзор может быть близок к систематическому [11]. Сводка данных приведена в таблице 2; в исландской работе исследовалась смертность рыбаков + моряков, каковые профессии во многом близки.

Таблица 2 – Смертность сравнительно с генеральной популяцией у рыбаков

Источник, страна исследования	Страна рыбаков; конец периода прослеживания; размер выборки	SMR all causes (± 95% CI)	SMR all cancer (± 95% CI)
Buell P, et al. J Chronic Dis 1960;12(6):600–21. (только abstract)	Великобритания; 1951 г.	1,06	Нет данных
Naruse Y, et al. Soc Sci Med. 1985;21(2):139–43.	Великобритания; 1971 г.; 10.080 человек	~ 2,44* выпало по критерию Шовене	~ 2,92* выпало по критерию Шовене
Naruse Y, et al. Soc Sci Med. 1985;21(2):139–43.	Япония; 1975 г.; 373.365 человек	~ 1,33*	~ 1,39*
Neutel Cl. Can J Public Health. 1989;80(5):375–9; Br J Ind Med. 1990;47(8):528–32.	Канада; 1983 г.; 33.000 человек	0,80 (0,76; 0,84)**	0,92 (0,83; 1,01)**
Hagmar L, et al. Scand. J. Work Environ. Health. 1992;18(4):217–24.	Швеция; 1987 г.; 1371 человек	0,88 (0,78; 0,99)	0,77 (0,58; 1,02)

Источник, страна исследования	Страна рыбаков; конец периода прослеживания; размер выборки	SMR all causes (\pm 95% CI)	SMR all cancer (\pm 95% CI)
Rafnsson V, Gunnarsdottir H. Brit Med J. 1993;306(6889):1379–81; Int J Epidemiol. 1994;23(4):730–6.	Исландия; рыбаки и моряки; 1989 г.; 27.884 человека	1,26 (1,21; 1,31)	1,13 (1,02; 1,25)
Jensen OC. Bull Inst Marit Trop Med Gdynia. 1996;47(1–4):5–10. (только abstract.); Jensen OC, PhD dissertation, 2020 [10]	Дания; 1985 г.; размер выборки не обнаружен	1,50 (1,34; 1,65)	Нет данных
Turunen AW, et al. Int J Epidemiol. 2008;37(5):1008–17.	Финляндия; 2005 г.; 6410 человек	0,78 (0,73; 0,82)	0,90 (0,80; 1,01)
Andersen O, et al. Mortality and occupation in 1996–2005. Copenhagen: Danmarks Statistik; 2009. Cited on: Lynge E. Scand J Public Health. 2011;39(Suppl 7):153–7.	Дания; 2005 г.; данные о размере выборки недоступны	'a mortality... seamen were now 70–85 % above the average'. Принято среднее значение 1,78	Нет данных
* оцифровка диаграммы с Fig. 2 оригинала; ** 95% CI рассчитаны нами по приведенным в оригинале значениям числа наблюдаемых и ожидаемых смертей.			

Из таблицы 2 видно, что для четырех из девяти исследованных групп информация о разбросе вариантов или отсутствует, или недоступна. В связи с этим, как сказано выше, помимо мета-анализа был проведен и объединяющий анализ на всей выборке (таблица 3).

Таблица 3 – Результаты объединяющего анализа и мета-анализа индексов SMR для рыбаков

Index	Объединяющий анализ	Мета-анализ
SMR all cause	$n = 8$ 1,17 (95% CI: 0,87; 1,47)	$n = 5$ $H = 9.2; I^2 = 99\%$; Egger's test: $p = 0,875$. Random-effects model: 1,01 (95% CI: 0,78; 1,30)
SMR all cancer	$n = 5$ 1,02 (95% CI: 0,72; 1,32)	$n = 4$ $H = 2.2; I^2 = 79\%$; Egger's test: $p = 0,503$. Random-effects model: 0,95 (95% CI: 0,82; 1,09)

Представленные данные свидетельствуют об отсутствии как публикационного смещения, так и «Эффекта здорового работника» у рыбаков, хотя он должен быть априори, ибо представители этой профессии явно имеют и самоотбор при ее выборе, и отбор в процессе деятельности по здоровью, как то показано для иных типов занятости [1, 6]. Однако тяжесть, опасность и, возможно, вредность профессии перевешивают все вероятно повышенные показатели здоровья. Как указывал ведущий исследователь в области 'Occupational Epidemiology' [17], Richard R. Monson (США) [18]: «При интерпретации данных, когда имеется явная избыточная смертность, связанная с работой, часто можно игнорировать "Эффект здорового работника"... "Эффект здорового работника" относительно слаб по сравнению с причинными эксцессами, которые можно обнаружить в эпидемиологических данных».

Однако для рыбаков не видно и какого-либо значительного превышения смертности как от всех причин, так и от всех раков: максимальное значение риска составило всего 1,17 (таблица 3). Применительно к относительному риску RR в эпидемиологии (описательная дисциплина) его величина менее 1,2 рассматривается как «неопределяемый риск» в связи с вероятным вкладом неконтролируемых вмешивающихся факторов и субъективных уклонов [17]. Хотя показатель RR и отличается от SMR, тем не менее показано, что при ряде условий RR может быть успешно аппроксимирован из SMR [1].

Ограничением нашего мета-анализа является некоторая недостаточность данных (мало исследований), что не позволяет провести селекцию источников по их качеству, по учету конфаундеров, субъективных уклонов и по размеру выборки, данные о которой не всегда доступны. Тем не менее, все исследования – когортные (наивысший ранг для эпидемиологического дизайнера, не считая систематического обзора и мета-анализа [19]), а для тех работ, в которых указан (или его удалось найти) размер групп, таковой оказывается вполне достаточным (тысячи, десятки и сотни тысяч человек; таблица 3) для требований к мета-анализу как PRISMA, так и соответствующего российского руководства Омельяновский В. В. и др., 2017 [3, 6].

Далее в качестве основных показателей принимались индексы SMR для рыбаков, полученные в результате объединяющего анализа, охватившего большее число исследований.

Можно отметить здесь вне основной темы, что рассматриваемая, в частности, в финской работе рыбная диета, богатая Омега-3 полиненасыщенными жирными кислотами и витамином D, немного снизила общую смертность рыбаков сравнительно с населением (за счет болезней системы кровообращения) только для половины исследованных когорт (таблица 3).

Сравнение риска смертности для работников ядерной индустрии и шахтеров урановых рудников с показателями для наиболее вредных/опасных типов занятости

Ранее нами проводилось сравнение SMR all causes и all cancer для различных производств и типов занятости (в основном – по результатам мета-, pooled- и объединяющих анализов), включая профессии с максимальным «Эффектом здорового работника» (космонавты, астронавты, пилоты, работники ядерной индустрии 15 стран (без России), атлеты, военные) и с наибольшими вредностями (химическое производство различного типа, воздействие асбеста, пылевые экспозиции и др.) [3, 5, 6]. В таблице 4 представлены дополнительные и уточняющие данные для вредных/опасных типов занятости, включая результаты проведенного здесь мета-анализа смертности рыбаков, не рассмотренный ранее мета-анализ смертности от всех раков у работников ядерной индустрии девяти стран [13], pooled-анализ для обоих индексов риска у шахтеров урановых рудников пяти стран [20] и данные некоторых других мета-анализов (дополнительно для воздействий пыли, асбеста, пассивного курения и др.).

Таблица 4 – SMR all causes и all cancer для зарубежных и отечественных работников ядерной индустрии и шахтеров урановых рудников сравнительно с наиболее вредными типами занятости и воздействиями

Тип занятости или воздействие	SMR all causes (± 95% CI)	SMR all cancer (± 95% CI)
Работники ядерной индустрии из 15 стран (без России); мета-анализ: Котеров А. Н. и др., 2023d [6]; по данным из Vrijheid M. et al. Radiat Res. 2007;167(4):361–79.	0,62 (0,56; 0,69); n = 15	0,74 (0,69; 0,78); n = 15
Работники ядерной индустрии из 9 стран (с Россией – ПО «Маяк»); мета-анализ Qu SG, et al. Mol Clin Oncol. 201;8(5):703–11. [13].	Нет данных	0,88 (0,83; 0,94); n = 22
Работники ПО «Маяк»: Deltour I, et al. Environ Health. 2015;14:Article 91. 12 p. [14]	SRR: 0,66 (0,63, 0,69)	SRR: 0,86 (0,78; 0,95)
Наиболее токсичные тяжелые металлы: Hg, Cd, Pb, Cu; мета-анализ: Котеров А. Н. и др., 2023d [6]	1,03 (0,98; 1,08); n = 19	1,04 (0,98; 1,09); n = 19
Шахтеры урановых рудников; pooled-анализ* для 5 стран (PUMA; без России): Richardson DB, et al. 2021 [20]	1,05 (1,04; 1,06); n = 7; p < 0,001**	1,23 (1,21; 1,25); n = 7; p < 0,001**
Пылевые воздействия; мета-анализ: Котеров А. Н. и др., 2023c [5]	1,14 (1,08; 1,21); n = 18	1,10 (1,02; 1,18); n = 18
Воздействия кварцевой пыли; мета-анализ: Poinen-Rughooputh S, et al. BMC Public Health. 2016;16(1):Article 1137. 17 p.	Нет данных	1,78 (1,07; 2,96); n = 4 (без силикоза)
Угольные шахты; мета-анализ: Alif SM, et al. Occup Environ Med. 2022;79(5):347–57.	1,14 (1,00; 1,30); n = 21	0,88 (0,80; 0,97); n = 21
Пассивное курение; мета-анализ: Kim AS, et al. Int J Environ Res Public Health. 2018;15(9):Article E1981. 17 p.	Нет данных	OR*** = 1,22 (1,13; 1,33); n = 40
Пассивное курение; мета-анализ: Котеров А. Н. и др., 2024 [3]	1,14 (1,10; 1,19); n = 21	Нет данных
Рыбаки: представленный объединяющий анализ (combined; on Mean)	1,17 (0,87; 1,47); n = 8	1,02 (0,72; 1,32); n = 5
Воздействия асбеста и асбоцемента; мета-анализ Котеров А. Н. и др., 2023c [5]	1,17 (1,11; 1,23); n = 42	1,31 (1,22; 1,40); n = 38
Производство асбоцемента; pooled-анализ (производства в Италии): Luberto F, et al. Environ Health. 2019;18(1):Article 71. 19 p.	1,23 (1,19; 1,26); n = 21; p < 0,001**	1,47 (1,41; 1,53) n = 21; p < 0,001**

Тип занятости или воздействие	SMR all causes (± 95% CI)	SMR all cancer (± 95% CI)
Воздействие бета-нафтиламина; скорректированный мета-анализ: Котеров А. Н. и др., 2023с [5]	1,40 (0,99; 1,99); <i>n</i> = 4	1,73 (1,08; 2,78); <i>n</i> = 4
<p>* мета-анализ представляет собой суммирование (с учетом особых подходов включения и взвешивания источников по размеру выборок и дисперсии), а затем статистическую обработку <i>конечных</i> результатов отдельных исследований, в то время как <i>pooled</i>-анализ при подобной обработке оперирует совокупностью <i>первичных</i> данных из каждой работы [7];</p> <p>** статистическая значимость отличия SMR от единицы для <i>pooled</i>-анализов рассчитана нами (в <i>pooled</i>-анализах, в отличие от мета-анализов, представлены единые суммарные значения для наблюдаемых и ожидаемых смертей, что и позволяет выполнить расчет);</p> <p>*** OR отношение шансов. При низкой частоте эффекта $OR \approx RR$ [3], а RR, как указано выше, может быть аппроксимирован из SMR [1].</p>		

Можно видеть, что для работников ядерной индустрии всех стран, включая Россию последних 60 с лишним лет, характерен отчетливый «Эффект здорового работника». Триада механизмов данного феномена включает самоотбор при найме (на опасную и вредную работу идут индивидуумы, ощущающие свое здоровье достаточным), затем отбор при найме и, после, увольнение тех в процессе деятельности, кто не способен продолжать работу [1]. Но подобная триада характерна для всех вредных производств, однако из таблицы 4 следует, что почти никакие из них не характеризуются «Эффектом здорового работника» [18]. Поэтому возможно, что вредностей в ядерной индустрии на деле много меньше, чем в иных производствах, несмотря на внешнее и, порой, внутреннее облучение. Также может иметься более высокий уровень медицинского обслуживания и социально-экономического статуса.

Тем не менее, для шахтеров урановых рудников высокая вредность деятельности (преимущественно от воздействия радона на легкие) полностью нивелирует «Эффект здорового работника», хотя для иных шахтеров, угольных шахт, подобный феномен обнаруживается для показателя смертности от всех раков (таблица 4). Результаты *pooled*-анализа для пяти стран [20] (отечественных работ по общей смертности и смертности от всех раков для данного контингента не обнаружено [9]) демонстрируют для шахтеров урановых рудников некоторое учащение смертности, особенно – от всех раков (за счет рака легкого [20]). В результате несколько повышается и общая смертность.

Но к этому следует отметить, что исследованные индексы смертности для шахтеров урановых рудников ниже или на уровне тех, которые наблюдаются в результате пассивного курения (таблица 4). То есть в аспекте идеологии рисков работа в урановых рудниках, причем десятилетиями, не слишком отличается по последствиям от хронического воздействия вторичного табачного дыма дома или на работе (представленные в таблице 4 мета-анализы для пассивного курения выполнены для взрослых контингентов). Активное же курение, которому подвержены те же шахтеры и работники иных вредных производств, нечего и обсуждать.

Конечно, нельзя сбрасывать со счетов априори присущее шахтерам лучшее здоровье сравнительно с обычным населением. То есть явно более здоровые от природы люди (как рыбаки, так и шахтеры) сравниваются по смертности с обычными людьми, подвергающимися пассивному курению. И смертность оказывается равновеликой, что свидетельствует все же о существенной канцерогенной опасности при работе в урановых шахтах, раз априори присущий «Эффект здорового работника» полностью нивелируется.

Тем не менее, в общественно-социальном аспекте не превышение индексов смертности на урановых рудниках величины показателей у подвергающихся воздействию столь обычного и бытового фактора, как вторичный табачный дым, представляется наглядным.

Наконец, как и ранее [1, 5, 6], следует сделать вывод, что к наиболее вредным производствам можно отнести имеющие дело с пылевыми экспозициями разного рода и с асбестом. Хотя лидером по вредности является бета-нафтиламин, все же это менее распространенный агент, который только ранее использовался как антиоксидант при производстве красителей [6]. Из таблицы 4 видно также, что упомянутый выше «антирейтинг» профессии рыбаков как в России, так и в США, вполне оправдан: не считая воздействия бета-нафтиламина, рыбаки по учащению общей смертности действительно занимают второе место за строительством, в котором используется асбест, хотя смертность от рака

у рыбаков и несравнимо меньше (возможно, как раз из-за Омега-3 жирных кислот и витамина D в диете). Но общая смертность является *конечным* показателем, который связан с ожидаемой продолжительностью жизни [1, 6], в то время как смертность от рака – только *доля* от конечного показателя. Так, при мутации по гену *TP53* (снижен апоптоз) у долгожителей на 41 % увеличивается продолжительность жизни (после 85 лет), но в 2,5 раза учащается смертность от рака [21]. Очевидно, что предпочтительнее целое, а не часть.

Перечисленные здесь производства, согласно нашей базе данных по SMR all causes и all cancer для разных профессий и типов занятости [1], являются наиболее вредными из всех. Ранее же нами были представлены данные по профессиям с максимальным «Эффектом здорового работника» [1, 3, 5, 6]. Таким образом, проведенные исследования охватили все границы профессиональных рисков, и оказалось, что подведомственные ФМБА России контингенты, несмотря на обыденное представление, никак не имеют повышенную смертность, в том числе от рака; по крайней мере – сравнительно с воздействиями при обычной жизни.

Заключение. Выполненное синтетическое исследование по оценке смертности от всех причин и от всех раков сравнительно с населением для работников ядерной индустрии и шахтеров урановых рудников (подведомственные ФМБА России производства) продемонстрировало, в основном на уровне мета- и pooled-анализов, отчетливый «Эффект здорового работника» для первого контингента по обоим показателям и слабое превышение общей смертности (на 5 %) для второго. Несколько повышенный индекс смертности от всех раков (на 23 %) для шахтеров урановых рудников по величине был практически равен значению риска для пассивного курения (22 %). Сравнение с уровнем смертности для рыбаков (второе – пятое места по рейтингу опасности и вредности в США и России) и работников производств, предусматривающих воздействие наиболее вредных факторов, – пыли (включая угольные шахты), асбеста и бета-нафтиламина, а также пассивного курения, продемонстрировало лучшую ситуацию для работников ядерной индустрии и, применительно к индексу общей смертности (который связан с интегральным показателем благополучия – ожидаемой продолжительностью жизни) также и для шахтеров урановых рудников.

Полученные данные устраняют обыденные представления об особой опасности и вредности в настоящее время работ, связанных с внешним и внутренним облучением, и улучшают имидж занятости в области атомной энергетики.

Сведения о НИР. Тема «Расширение, совершенствование и эпидемиологический анализ экспертно-информационной базы данных (база источников) об эффектах лучевых и нелучевых воздействий для работников ядерной индустрии различных стран мира», регистрационный номер 123040300040-7.

Литература

1. Котеров, А. Н. База данных по стандартизованному отношению смертности (SMR all causes и SMR all cancer) для различных профессий (706 когорт/групп): максимальный «эффект здорового работника» – у космонавтов и врачей / А. Н. Котеров, Л. Н. Ушенкова, И. Г. Дибиргаджиев // Медицина труда и промышленная экология. – 2023. – Т. 63, № 3. – С. 179–192.

2. Padiak, J. The role of morbidity in the mortality decline of the nineteenth century: evidence from the military population at Gibraltar 1818–1899 // Journal of the History of Medicine and Allied Sciences. – 2005. – Vol. 60, № 1. – P. 73–95.

3. Сравнение риска общей смертности для работников ядерной индустрии, шахтеров урановых рудников и других профессий с риском пассивного курения (мета-анализы) / А. Н. Котеров, Л. Н. Ушенкова, И. Г. Дибиргаджиев, Т. М. Буланова // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2024. – Т. 69, № 5. – С. 75–86.

4. Котеров, А. Н. Работники ядерной индустрии – к вопросу об унификации русскоязычной терминологии (краткое сообщение) / А. Н. Котеров, Л. Н. Ушенкова, А. А. Вайнсон // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2023. – Т. 68, № 3. – С. 80–84.

5. Котеров, А. Н. Профессии, наиболее отражающиеся на здоровье: ядерная индустрия на последних местах по вредности (синтетическое исследование) / А. Н. Котеров, Л. Н. Ушенкова, М. В. Калинина, И. Г. Дибиргаджиев // Здоровье и окружающая среда : сб. материалов междунар. науч.-практ. конф., Минск, 23–24 нояб. 2023 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены, Белорус. науч. о-во гигиенистов ; редкол.: С. И. Сычик (гл. ред.). – Минск, 2023. – С. 96–100.

6. «Эффект здорового работника» по показателям общей смертности и смертности от злокачественных новообразований у персонала предприятий ядерной и химической индустрии: мета-анализы /

А. Н. Котеров, Л. Н. Ушенкова, М. В. Калинина, А. П. Бирюков // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2023. – Т. 68, № 4. – С. 43–50.

7. Traditional reviews, meta-analyses and pooled analyses in epidemiology / M. Blettner, W. Sauerbrei, B. Schlehofer [et al.] // International Journal of Epidemiol. – 1999. – Vol. 28, № 1. – P. 1–9.

8. База данных (база источников) об эффектах лучевых и нелучевых воздействий для работников ядерной индустрии различных стран мира : свидетельство о государственной регистрации № 2024623705 / А. Н. Котеров, Л. Н. Ушенкова. – Опубликовано 22.08.2024, Бюллетень № 2.

9. База данных (база источников) об эффектах лучевых и нелучевых воздействий для шахтеров урановых рудников различных стран мира : свидетельство о государственной регистрации № 2024623706 / А. Н. Котеров, Л. Н. Ушенкова. – Опубликовано 22.08.2024, Бюллетень № 2.

10. Jensen, O. C. Can epidemiology help workers return safe and healthy from the sea? : diss. ... for the degree of Dr. of Medicine / Olaf Chresten Jensen ; Frederick Univ. – Nicosia, 2020. – 252 p. – URL: <https://portal.findresearcher.sdu.dk/en/publications/can-epidemiology-help-workers-return-safe-and-healthy-from-the-sea> (date of access 26.09.2024).

11. Cochrane handbook for systematic reviews of interventions / ed.: J. P. T. Higgins, J. Thomas, J. Chandler [et al.]. – 2nd ed. – [S. l.] : Wiley-Blackwell, 2019. – 694 p.

12. Кокунин, В. А. Статистическая обработка данных при малом числе опытов / В. А. Кокунин // Украинский биохимический журнал. – 1975 – Т. 47, № 6. – С. 776–790.

13. Low-dose ionizing radiation increases the mortality risk of solid cancers in nuclear industry workers: a meta-analysis / S. G. Qu, J. Gao, B. Tang [et al.] // Molecular and Clinical Oncology. – 2018. – Vol. 8, № 5. – P. 703–711.

14. Mortality of populations potentially exposed to ionising radiation, 1953–2010, in the closed city of Ozyorsk, Southern Urals: a descriptive study / I. Deltour, F. Tretyakov, Y. Tsareva, [et al.] // Environmental Health. – 2015. – Vol. 14. – DOI: 10.1186/s12940-015-0078-8.

15. Исследование риска смерти от злокачественных новообразований у лиц, подвергавшихся долговременному профессиональному облучению / Д. Е. Калинин, А. Б. Карпов, Р. М. Тахауов [и др.] // Сибирский медицинский журнал. – 2013. – Т. 28, № 2. – С. 108–114.

16. Факторы влияния на состояние здоровья взрослого населения, проживающего в зоне действия предприятия атомной индустрии / Д. Е. Калинин, Р. М. Тахауов, А. Б. Карпов [и др.] // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2020. – Т. 65, № 4. – С. 5–11.

17. Monson, R. R. Occupational epidemiology / R. R. Monson. – 1st ed. – Boca Raton : CRC Press, 1980. – 219 p. ; 2nd ed. – Boca Raton : CRC Press, 1990. – 312 p.

18. Monson, R. R. Observations on the healthy worker effect / R. R. Monson // Journal of Occupational Medicine. – 1986. – Vol. 28, № 6. – P. 425–433.

19. Основы доказательной медицины / Т. Гринхальх ; под ред. К. И. Сайткулова. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 240 с.

20. Richardson, D. B. Mortality among uranium miners in North America and Europe: the Pooled Uranium Miners Analysis (PUMA) / D. B. Richardson, E. Rage, P. A. Demers [et al.] // International Journal of Epidemiology. – 2021. – Vol. 50, № 2. – P. 633–643.

21. Variation in the human TP53 gene affects old age survival and cancer mortality / D. Van Heemst, P. S. Mooijaart, M. Beekman, [et al.] // Experimental Gerontology. – 2005. – Vol. 40, № 1–2. – P. 11–15.

Kotеров A. N., Ushenkova L. N., Dibirgadzhev I. G., Kalinina M. V.

**ALL CAUSES MORTALITY AND ALL CANCERS AMONG NUCLEAR INDUSTRY WORKERS
AND URANIUM MINERS COMPARED WITH THE MOST HARMFUL/DANGEROUS PROFESSIONS
(SYNTHETIC STUDY)**

*State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency,
Moscow, Russia*

The standardized mortality ratio (hereinafter – SMR) indexes for overall mortality and mortality from all cancers were compared for nuclear industry workers and uranium miners (contingents subordinated to the Federal Medical and Biological Agency of Russia) with the indexes for those employed in industries with harmful and/or hazardous factors (heavy metals, dust, asbestos, beta-naphthylamine, fishing, etc.), as well as with passive smoking. The study was performed for the indexes obtained mainly by meta- or pooled

analyses. The 'Healthy Worker Effect' was demonstrated for foreign and domestic nuclear workers for both indexes and a slight excess of overall mortality (by 5 %) for uranium miners. Compared with other industries and passive smoking lower mortality was revealed for nuclear workers, and, with regard to overall mortality, also for uranium miners. The obtained data eliminate the idea of special danger and harmfulness of work related to external and internal radiation, and improve the image of employment in the field of nuclear energy.

Keywords: nuclear workers, uranium miners, standardized mortality ratio, total mortality, mortality from all cancers, harmful/hazardous industries, healthy worker effect.

References

1. Koterov A. N., Ushenkova L. N., Dibirgadzhev I. G. Database on standardized mortality ratio (SMR all causes and SMR all cancer) for various professions (706 cohorts/groups): The maximum «effect of a healthy worker» – in astronauts and doctors. *Russ J Occup Health Ind Ecol.* 2023; 63(3): 179–92. (in Russian)
2. Padiak J. The role of morbidity in the mortality decline of the nineteenth century: Evidence from the military population at Gibraltar 1818–1899. *J Hist Med Allied Sci.* 2005; 60(1): 73–95.
3. Koterov A. N., Ushenkova L. N., Dibirgadzhev I. G., Bulanova T. M. Comparison of the total mortality risk for nuclear workers, uranium miners and other occupations with the risk of passive smoking (meta-analysis). *Med Radiol Radiat Saf.* 2024; 69(5): 75–86. (in Russian)
4. Koterov A. N., Ushenkova L. N., Wainson A. A. Nuclear workers – on the question of unification of Russian-language terminology (brief report). *Med Radiol Radiat Saf.* 2023; 68(3): 80–4. (in Russian)
5. Koterov A. N., Ushenkova L. N., Kalinina M. V., Dibirgadzhev I. G. Professions with the greatest impact on health: The nuclear industry ranks last in terms of harmfulness (synthetic study). In: Sychik S. I., chief ed. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda (Health and environment): sb. materialov mezhdunar. nauch.-prakt. konf., Minsk, 23–24 noyab. 2023 g. Minsk; 2023: 96–100.* (in Russian)
6. Koterov A. N., Ushenkova L. N., Kalinina M. V., Biryukov A. P. The «Healthy worker effect» on indexes of total mortality and malignant neoplasms mortality for nuclear and chemical workers: Meta-analysis. *Med Radiol Radiat Saf.* 2023; 68(4): 43–50. (in Russian)
7. Blettner M., Sauerbrei W., Schlehofer B. et al. Traditional reviews, meta-analyses and pooled analyses in epidemiology. *Int J Epidemiol.* 1999; 28(1): 1–9.
8. Koterov A. N., Ushenkova L. N. Database (source database) on the effects of radiation and non-radiation exposure for nuclear workers in various countries of the world: State registration certificate No. 2024623705. Publ. 08.22.2024, Bull. No. 2. (in Russian)
9. Koterov A. N., Ushenkova L. N. Database (source database) on the effects of radiation and non-radiation exposure for uranium miners in different countries of the world: state registration certificate No. 2024623706. Publ. 08.22.2024, Bull. No. 2. (in Russian)
10. Jensen O. C. Can epidemiology help workers return safe and healthy from the sea? Doctoral Dissertation. Frederick Univ. Nicosia; 2020. Available at: <https://portal.findresearcher.sdu.dk/en/publications/can-epidemiology-help-workers-return-safe-and-healthy-from-the-se> (accessed 26 September 2024).
11. Higgins J. P. T., Thomas J., Chandler J. et al., eds. *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions.* 2nd ed. [S.l.]: Wiley; 2019.
12. Kokunin V. A. Statistical processing of data with a small number of experiments. *Ukr Biochem J.* 1975; 47(6): 776–91. (in Russian)
13. Qu S. G., Gao J., Tang B. et al. Low-dose ionizing radiation increases the mortality risk of solid cancers in nuclear industry workers: A meta-analysis. *Clin Oncol.* 2018; 8(5): 703–11.
14. Deltour I., Tretyakov F., Tsareva Y. et al. Mortality of populations potentially exposed to ionising radiation, 1953–2010, in the closed city of Ozyorsk, Southern Urals: A descriptive study. *Environ Health.* 2015; 14. DOI: 10.1186/s12940-015-0078-8.
15. Kalinkin D. E., Karpov A. B., Takhauov R. M. et al. Cancer mortality risk in persons exposed to long-term occupational radiation. *Sib Med J.* 2013; 28(2): 108–14. (in Russian)
16. Kalinkin D. E., Takhauov R. M., Karpov A. B. et al. Factors influencing the health condition of the adult population residing in the activity area of atomic industry enterprise. *Med Radiol Radiat Saf.* 2020; 65(4): 5–11. (in Russian)
17. Monson, R. R. *Occupational epidemiology.* 1st ed. Boca Raton: CRC Press; 1980. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press; 1990.
18. Monson, R. R. Observations on the healthy worker effect. *J Occup Med.* 1986; 28(6): 425–33.
19. Greenhalgh T. *Fundamentals of evidence-based medicine.* Moscow: GEOTAR-Media; 2006. (in Russian)

20. Richardson D. B., Rage E., Demers P. A. et al. Mortality among uranium miners in North America and Europe: The pooled uranium miners analysis (PUMA). *Int J Epidemiol.* 2021; 50(2): 633–43.

21. Van Heemst D., Mooijaart P. S., Beekman M. et al. Variation in the human TP53 gene affects old age survival and cancer mortality. *Exp Gerontol.* 2005; 40(1–2): 11–5.

e-mail для переписки: govovilga@inbox.ru

Поступила 03.10.2024

УДК 614.71:546.296(476.5)

Лукьянова Д. В., Суходольская А. А.¹, Василевский Л. Л.,
Лукашевич Ж. А., Леонтьева Т. Г., Маковская Н. А.

УРОВНИ СОДЕРЖАНИЯ РАДОНА ВНУТРИ ПОМЕЩЕНИЙ ЖИЛЫХ И АДМИНИСТРАТИВНЫХ ЗДАНИЙ ВИТЕБСКОЙ ОБЛАСТИ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ ПО СОСТОЯНИЮ НА 2023 ГОД

Государственное научное учреждение «Объединенный институт энергетических и ядерных исследований – Сосны» Национальной академии наук Беларуси, д. Прилесье, Республика Беларусь

¹ Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. В статье приведены результаты мониторинга радона-222, проведенного в 2023 году в 90 жилых и административных зданиях 31 населенного пункта 8 административных районов Витебской области: Бешенковичский, Витебский, Городокский, Докшицкий, Полоцкий, Ушачский, Чашникский и Шумилинский. В ходе исследования были определены объемная активность радона-222 (далее – \overline{OA}_{Rn}) и эквивалентная равновесная объемная активность радона-222 (далее – $\overline{ЭРОА}_{Rn}$) в воздухе жилых и административных зданий. Результаты показали, что превышение значения референтного уровня содержания \overline{OA}_{Rn} 300 Бк/м³ наблюдалось в 1 помещении. Средние значения \overline{OA}_{Rn} в различных административных районах Витебской области изменяются от 71 до 145 Бк/м³, а максимальное значение 375 Бк/м³ и было зафиксировано в административном здании Ушачского района. Полученные данные дополнили геоинформационную базу данных уровней содержания радона в воздухе помещений на указанной территории и использовались для обновления карты радоноопасности

Ключевые слова: помещения жилых и административных зданий, радон, объемная активность, эквивалентная равновесная объемная активность, карта радоноопасности.

Введение. Проведение исследований, направленных на измерение уровней содержания радона внутри помещений, обусловлено значительным вкладом радона в облучение населения от природных и техногенных источников, ионизирующего излучения [1]. Облучение радоном относится к ситуации существующего облучения, поскольку его источником являются естественные радионуклиды урана-238 и радия-226, содержащиеся в горных породах. В результате распада радия-226 образующийся радон эманурует из земной коры и вследствие этого присутствует в атмосферном воздухе, внутри зданий и вносит значимый вклад в дозу облучения населения. Радон является канцерогенно-опасным радионуклидом и выступает одним из основных факторов, обуславливающим повышенную вероятность заболеваний раком легких. Большую часть дозы от радона и его дочерних продуктов распада человек получает внутри помещений [2].

Радон проникает в дома через щели в полах, трещины в бетоне, в местах соединения пола и стен, поры в стенах из пустотелых блоков, через дренажные и сточные трубы. Уровни содержания радона обычно выше в помещениях, которые прилегают к почве, в погребах, подвалах. Концентрация радона в одном и том же доме может изменяться каждый день [3]. В результате таких изменений для определения среднегодового содержания радона в воздухе внутри жилых и административных зданий необходимо время для экспозиции трековых детекторов составляет 1–3 месяца.

В соответствии с гигиеническим нормативом «Критерии оценки радиационного воздействия» (постановление Совета Министров Республики Беларусь от 25 января 2021 г. № 37) (далее – гигиенический норматив) нормируемой величиной является среднегодовая объемная активность радона \overline{OA}_{Rn} , которая в воздухе эксплуатируемых жилых помещений не должна превышать 300 Бк/м³ [4]. Если

зафиксировано превышение объемной активности радона, необходимо применять меры, направленные на снижение поступления радона в воздух жилых и административных зданий.

Существует ряд защитных мероприятий, которые позволяют уменьшить его проникновение в жилые и административные здания, а также снизить его концентрацию. К числу таких мероприятий можно отнести следующие [5]: отвод радона из почвы, принудительная вентиляция подвальных помещений под зданием, под фундаментом с помощью специальных магистралей, установка «радоновых колодцев», изоляция отверстий и трещин в полах и стенах подвалов с помощью газоизолирующих материалов, герметизация мест прохождения труб и других коммуникаций через перекрытия, применение моющих обоев, покрытие стен и потолков помещений эмульсионными или масляными красками, установка всасывающих вентиляторов в помещениях с подогревом поступающего воздуха. Конкретные меры выбираются на основе результатов тщательных исследований, учитывающих особенности нахождения людей в помещении.

Государственным научным учреждением «Объединенный институт энергетических и ядерных исследований – Сосны» Национальной академии наук Беларуси, начиная с 2004 года, проводятся систематические исследования по мониторингу радона в воздухе зданий на территории Беларуси. Основной целью данных исследований является оценка доз радиоактивного облучения населения в различных регионах, актуализация геоинформационной базы данных результатов измерений радона и построение карты радоноопасности территории Беларуси.

Цель работы – установить уровни содержания радона-222 внутри помещений жилых и административных зданий Витебской области Республики Беларусь в 2023 году для актуализации геоинформационной базы данных и дополнения карты радоноопасности.

Материалы и методы. В данной работе измерения объемной активности радона в воздухе зданий Витебской области проводились с применением интегрального метода пассивной трековой радиометрии, используя твердотельные трековые детекторы альфа-частиц в соответствии с установленной методикой [6, 7]. В качестве детектора использовалась нитроцеллюлозная пленка LR-115, тип 2, производства фирмы DOSIRAD (Франция), позволяющая применить искровой способ счета треков. Для получения данных использовался комплекс средств измерения объемной активности радона КСИОАР-01, включающий набор интегральных пассивных трековых радонометров, устройство для одновременного травления большого числа трековых детекторов ТРАЛ-1 и автоматический электроискровой счетчик треков АИСТ-1. Время экспозиции трековых радиометров радона составляет 2–3 месяца. Большинство измерений проводилось в холодный сезон и на первых этажах зданий.

При мониторинге радона-222 в воздухе помещений измеряемым показателем является объемная активность радона, усредненная за период экспозиции радонометров. На основе измеренных значений $\overline{OA_{Rn}}$ согласно методическим указаниям [8] определяли среднегодовые значения $\overline{\text{ЭРОА}_{Rn}}$.

В 2023 году для проведения радонометрических исследований выбирались здания в тех населенных пунктах (далее – НП), в которых мониторинг радона ранее не проводился с учетом следующих критериев: разнообразие строительных материалов для возведения зданий (блоки, дерево, кирпич, бетон и др.), тип зданий (жилые или административные), этажность (одноэтажные жилые дома старой постройки, первый этаж многоэтажных зданий). Для измерения концентраций радона в воздухе жилых и административных зданий было выбрано 90 помещений из 31 НП, расположенных в 8 административных районах Витебской области: Бешенковичский, Докшицкий, Городокский, Чашникский, Полоцкий, Шумилинский, Ушачский и Витебский. Из отобранного количества помещений 75 относятся к жилым и 15 – к административным. Из 90 помещений 28,9 % построено из дерева, 47,8 % – из минерального сырья (кирпич, газобетон, бетон и т. п.), 23,3 % – из смешанных материалов (дерева, обожженного кирпичом, и т. п.).

Результаты и их обсуждение. Согласно гигиеническому нормативу, начиная с 2022 года, при мониторинге радона в воздухе жилых и административных зданий на территории Республики Беларусь нормируемым показателем является среднегодовая объемная активность радона ($\overline{OA_{Rn}}$), которая не должна превышать 300 Бк/м³ [4]. До 2022 года нормируемым параметром являлась среднегодовая эквивалентная равновесная объемная активность радона ($\overline{\text{ЭРОА}_{Rn}}$), которая в эксплуатируемых жилых зданиях не должна превышать 200 Бк/м³ [9].

В таблице 1 приведены результаты исследований уровней $\overline{OA_{Rn}}$ и $\overline{\text{ЭРОА}_{Rn}}$ в воздухе помещений, обследованных в 2023 году на территории Витебской области.

Таблица 1 – Распределение значений $\overline{OA_{Rn}}$ и $\overline{ЭРОА_{Rn}}$ в воздухе обследованных в 2023 году помещений НП Витебской области

№	Административный район	Кол-во НП, ед.	Кол-во помещений, шт.	Значение $\overline{OA_{Rn}}$, Бк/м ³			Значение $\overline{ЭРОА_{Rn}}$ Бк/м ³		
				ср.	мин.	макс.	ср.	мин.	макс.
1	Докшицкий	5	13	96	30	200	70	24	142
2	Бешенковичский	4	7	71	35	135	56	29	104
3	Ушачский	2	8	145	45	375	110	36	280
4	Чашникский	4	15	128	30	300	93	24	214
5	Полоцкий	2	8	86	30	230	72	24	191
6	Городокский	4	10	120	30	200	102	24	168
7	Шумилинский	5	14	86	30	300	73	24	249
8	Витебский	5	15	98	30	195	86	24	167
В целом по области		31	90	104	30	375	83	24	280

Из таблицы 1 видно, что среднее значение $\overline{OA_{Rn}}$ в различных административных районах Витебской области составляет 104 Бк/м³ и изменяется в диапазоне от 71 до 145 Бк/м³. Минимальное значение $\overline{OA_{Rn}}$ составило 30 Бк/м³, а максимальное значение $\overline{OA_{Rn}}$ составило 375 Бк/м³ и зафиксировано в административном здании Ушачского района. Среднее значение $\overline{ЭРОА_{Rn}}$ составляет 83 Бк/м³ и варьирует от 56 до 110 Бк/м³, минимальное значение $\overline{ЭРОА_{Rn}}$ – 24 Бк/м³, а максимальное значение $\overline{ЭРОА_{Rn}}$ – 280 Бк/м³.

В таблице 2 приведено количество помещений, в которых определены значения $\overline{OA_{Rn}}$ и $\overline{ЭРОА_{Rn}}$.

Таблица 2 – Распределение помещений по измеренным значениям $\overline{OA_{Rn}}$ и $\overline{ЭРОА_{Rn}}$

Наименование показателя	Значение $\overline{OA_{Rn}}$, Бк/м ³				Значение $\overline{ЭРОА_{Rn}}$ Бк/м ³		
	менее 100	от 100 до 200	от 200 до 300	более 300	менее 100	от 100 до 200	200 и более
Количество помещений	53	26	10	1	64	23	3
Процентное содержание от общего количества обследованных помещений, %	58,9	28,9	11,1	1,1	71,1	25,6	3,3

На рисунке 1 представлены диапазоны объемной активности радона-222, полученные для 90 обследованных помещений Витебской области.

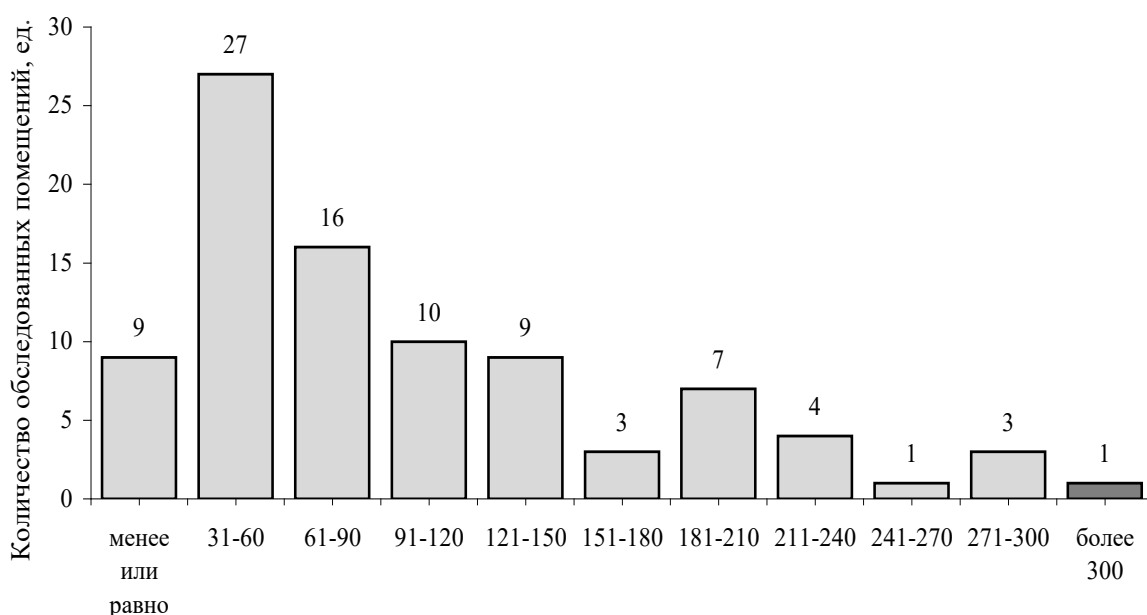


Рисунок 1 – Диапазоны объемной активности радона-222 в воздухе зданий Витебской области, обследованных в 2023 г.

Из рисунка 1 видно, что в 27 помещениях значения $\overline{OA_{Rn}}$ в воздухе варьируют от 31 до 60 Бк/м³. Значение $\overline{OA_{Rn}}$ более 300 Бк/м³ зафиксировано в одном помещении Ушачского района (375 Бк/м³). Соответствующее значение $\overline{ЭРОА_{Rn}}$ в данном помещении составляет 280 Бк/м³. Рассчитанное значение средней годовой эффективной дозы облучения населения по 8 административным районам Витебской области составляет 5,2 мЗв/год и варьирует в диапазоне от 3,5 до 6,9 мЗв/год. Максимальное значение годовой эффективной дозы облучения населения в административном здании Ушачского района составляет 17,6 мЗв/год.

В результате проведенных исследований в 2023 г. получены новые данные об уровнях содержания радона-222 в воздухе помещений 31 НП Витебской области в дополнение к данным за предыдущий период наблюдения. Проведено обобщение и анализ данных по содержанию радона-222 в воздухе помещений за весь период исследований 2008–2023 гг.: всего исследовано 969 помещений, расположенных в 199 населенных пунктах 21 административного района Витебской области (таблица 3).

Таблица 3 – Распределение значений $\overline{OA_{Rn}}$ и $\overline{ЭРОА_{Rn}}$ в воздухе помещений НП Витебской области за весь период наблюдения (2008–2023 гг.)

№	Административный район	Кол-во НП, ед.	Кол-во помещений, шт.	Значение $\overline{OA_{Rn}}$, Бк/м ³			Значение $\overline{ЭРОА_{Rn}}$ Бк/м ³		
				ср.	мин.	макс.	ср.	мин.	макс.
1	Лепельский	5	38	106	30	455	73	18	321
2	Бешенковичский	7	21	53	25	135	50	28	104
3	Дубровенский	8	46	56	20	230	39	13	115
4	Докшицкий	11	59	114	20	305	78	19	193
5	Сенненский	19	90	104	25	440	70	2	218
6	Браславский	8	58	166	20	1620	91	18	793
7	Верхнедвинский	9	54	97	20	360	51	13	179
8	Толочинский	9	53	98	20	345	72	13	171
9	Шумилинский	10	36	93	30	302	80	18	249
10	Витебский	12	46	81	20	220	78	23	218
11	Глубокский	10	37	140	20	695	90	13	495
12	Чашникский	7	38	80	30	302	55	18	214
13	Миорский	11	46	104	30	390	78	18	310
14	Городокский	11	44	86	20	525	83	23	515
15	Полоцкий	8	36	84	25	335	50	15	191
16	Поставский	8	43	99	25	345	83	18	278
17	Шарковщинский	15	56	104	30	443	82	18	344
18	Ушачский	3	11	119	45	375	88	28	280
19	Лиозненский	12	57	88	20	305	84	18	268
20	Оршанский	8	48	83	20	645	58	13	318
21	Россонский	8	52	127	40	405	65	23	201
В целом по области		199	969	101	20	1620	72	2	793

На основании проведенных исследований установлено, что среднее значение $\overline{OA_{Rn}}$ в Витебской области составляет 101 Бк/м³, в различных административных районах изменяется в диапазоне от 53 до 166 Бк/м³. Среднее значение $\overline{ЭРОА_{Rn}}$ по Витебской области составляет 72 Бк/м³ и в различных административных районах варьирует от 39 до 91 Бк/м³.

Полученные в 2023 году данные мониторинга радона на территории Витебской области внесены в уже имеющуюся геоинформационную базу данных уровней содержания радона в воздухе помещений. Актуализированная карта радоноопасности территории Витебской области по результатам мониторинга радона за период с 2008 и с учетом новых данных, полученных в 2023 году, представлена на рисунке 2.

За весь период наблюдения превышения $\overline{ЭРОА_{Rn}}$ в ячейке 10 × 10 км установлены в Глубокском районе агрогородка Голубичи и попали в диапазон значений 200–500 Бк/м³, где выполнено всего 4 измерения, среднее значение $\overline{ЭРОА_{Rn}}$ в данной ячейке составляет 288 Бк/м³.

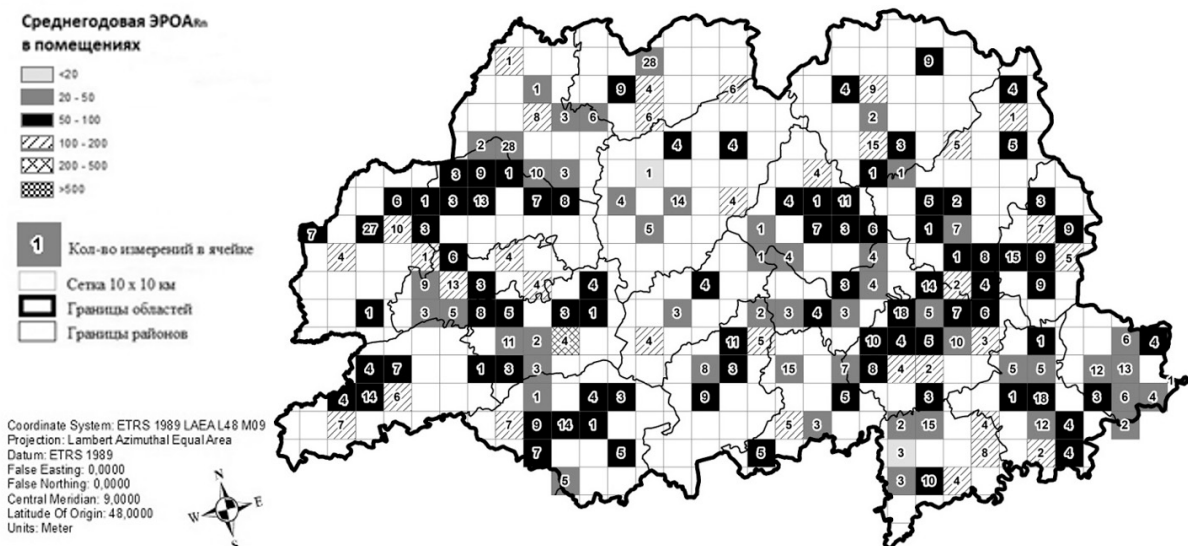


Рисунок 2 – Карта радоноопасности территории Витебской области за период 2008–2023 гг.

Заключение. В результате выполненных исследований содержания объемной активности радона \overline{OA}_{Rn} в зданиях Витебской области в 2023 году установлено, что среднее значение \overline{OA}_{Rn} составляет 104 Бк/м³, в различных административных районах изменяется в диапазоне от 71 до 145 Бк/м³, максимальное значение \overline{OA}_{Rn} составило 375 Бк/м³ и зафиксировано в административном здании Ушачского района. Соответствующее значение $\overline{ЭРОА}_{Rn}$ в данном помещении составляет 280 Бк/м³. Среднее значение $\overline{ЭРОА}_{Rn}$ по Витебской области составляет 72 Бк/м³ и в различных административных районах варьирует от 39 до 91 Бк/м³. Рассчитанное значение средней годовой эффективной дозы облучения населения по 8 районам Витебской области составляет 5,2 мЗв/год, а максимальное – 17,6 мЗв/год (административное здание Ушачского района).

Полученные в 2023 году результаты определения \overline{OA}_{Rn} в помещениях Витебской области позволили актуализировать геоинформационную базу данных уровней содержания радона в воздухе помещений на указанной территории и использованы для обновления карты радоноопасности, которая может использоваться в качестве инструмента для анализа ситуации существующего облучения населения, обусловленного присутствием радона и его дочерних продуктов распада в помещениях, и планирования радиационно-гигиенического мониторинга.

Сведения о НИР. НИР «Проведение репрезентативного радонового обследования зданий на территории Республики Беларусь в соответствии с требованиями МАГАТЭ и оценка ситуации существующего облучения, обусловленного присутствием радона в воздухе помещений» задания 3.1.05 «Влияние конструкционных материалов, топлива и теплоносителя на экологические и энергетические параметры энергоустановок на ядерном топливе» подпрограммы 1.3 «Ядерные исследования и технологии (теория, эксперимент, приложения)» государственной программы научных исследований «Энергетические и ядерные процессы и технологии» на 2021–2025 годы, регистрационный номер 20210736.

Литература

1. Матвеев, А. В. Радон в геологических комплексах Беларуси / А. В. Матвеев, А. К. Карабанов, М. И. Автушко. – Минск : Беларус. навука, 2017. – 136 с.
2. Публикация 115 МКРЗ. Риск возникновения рака легкого при облучении радоном и продуктами его распада. Заявление по радону / М. Тирмарш, Дж. Д. Харрисон, Д. Лурье [и др.]. – М. : ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А. И. Бурназяна ФМБА России, 2013. – URL: http://www.icrp.org/docs/P115_russian%20edition.pdf (дата обращения: 26.08.2024). – (Серия «Труды МКРЗ»).
3. Публикация 126 МКРЗ. Радиологическая защита от облучения радоном / Ж. Ф. Лекомте, С. Соломон, Дж. Такала [и др.]. – М. : ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А. И. Бурназяна ФМБА России, 2015. – URL: https://icrp.org/docs/P126_Russian.pdf (дата обращения: 26.08.2024). – (Серия «Труды МКРЗ»).

4. Критерии оценки радиационного воздействия : гигиен. норматив : утв. постановлением Совета Министров Респ. Беларусь от 25 янв. 2021 г. № 37 : в ред. от 29 нояб. 2022 г. № 829 // илех : информ. правовая система (дата обращения: 25.12.2022).

5. Публикация 65 МКРЗ. Защита от радона-222 в жилых помещениях и на рабочих местах / под ред. М. В. Жуковского, А. В. Кружалова. – М. : Энергоатомиздат, 1995. – 68 с.

6. Методика определения объемной активности радона в воздухе жилых и производственных помещений с использованием интегральных радонометров на основе твердотельных трековых детекторов альфа-частиц : МВИ. МН. 1808-2002. – Минск, 2002. – 18 с.

7. Концентрация радона в воздухе помещений Витебской, Могилевской и Гомельской областей Беларуси и оценка дозы облучения населения радонотомом / И. В. Жук, А. К. Карабанов, А. А. Сафронова [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2019. – Т. 63, № 1. – С. 87–95.

8. Проведение радиационно-гигиенического обследования жилых и общественных зданий : метод. указания МУК РБ № 11-8-6-2002 / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Респ. центр гигиены и эпидемиологии. – Минск, 2002. – 22 с.

9. Требования к радиационной безопасности : санитарные нормы и правила : утв. постановлением М-ва здравоохранения Респ. Беларусь от 28 дек. 2012 г. № 213 // илех : информ. правовая система (дата обращения: 23.09.2024).

*Lukyanava D. V., Sukhadolskaya A. A.¹, Vasileuski L. L.,
Lukashevich J. A., Leontieva T. G., Makovskaya N. A.*

RADON LEVELS INSIDE RESIDENTIAL AND ADMINISTRATIVE BUILDINGS OF THE VITEBSK REGION OF THE REPUBLIC OF BELARUS AS OF 2023

State Scientific Institution «The Joint Institute for Power and Nuclear Research – Sosny» of the National Academy of Sciences of Belarus, Prilesye district, Belarus

¹ State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

The article presents data obtained during radon-222 monitoring in 2023 in 90 residential and administrative buildings of 31 settlements in 8 administrative districts of the Vitebsk region: Beshenkovichsky, Vitebsk, Dokshitsky, Polotsky, Ushacha, Chashniki and Shumilinsky district. As a result of the study, the volumetric activity of radon-222 (hereinafter – VA_{Rn}) and the equivalent equilibrium volumetric activity of radon-222 (hereinafter – $AEEC_{Rn}$) in the air of residential and administrative buildings were determined. The results showed that the excess of the reference level of 300 Bq/m³ was observed in 1 room. The average radon values VA_{Rn} in various administrative districts of the Vitebsk region range from 71 to 145 Bq/m³, and the maximum value of 375 Bq/m³ was recorded in the administrative building of the Ushachsky district. The obtained data supplemented the geoinformation database of radon levels in indoor air in the specified area and were used to update the radon hazard map.

Keywords: premises of residential and administrative buildings, radon, volumetric activity, equivalent equilibrium volumetric activity, radon risks mapping.

References

1. Matveev A. V., Karabanov A. K., Avtushko M. I. Radon in geological complexes of Belarus. – Minsk: Belarus. navuka; 2017. (in Russian)

2. Tirmarche M., Harrison J. D., Laurier D. et al. ICRP Publication 115. Lung cancer risk from radon and progeny and statement on radon. Moscow: FGBU GNTS FMBTS im. A.I. Burnazyana FMBA Rossii; 2015. Available at: http://www.icrp.org/docs/P115_russian%20edition.pdf. (accessed 25 August 2024). (in Russian)

3. Lecomte J.-F., Solomon S., Takala J. et al. ICRP Publication 126. Radiological protection against radon exposure. Moscow: FGBU GNTS FMBTS im. A.I. Burnazyana FMBA Rossii; 2015. Available at: http://www.icrp.org/docs/P126_Russian.pdf. (accessed 26 August 2024). (in Russian)

4. Criteria for assessing radiation exposure: gigien. normativ: utv. postanovleniem Soveta Ministrov Rosp. Belarus ot 25 yanv. 2021 g. № 37: v red. ot 29 noyab. 2022 g. № 829. In: illex: inform. pravovaya sistema (accessed 25 December 2022). (in Russian)

5. Zhukovsky M. V., Kruzhalov A. V. eds. ICRP publication 65 protection against radon-222 at home and at work. Moscow: Energoatomizdat; 1995. (in Russian)

6. Measurement procedure 1808–2002. Method for determining the volumetric activity of radon in the air of residential and industrial premises using integral radonimeters based on solid states of alpha particles. Minsk; 2002. (in Russian)

7. Juk I. V., Karabanov A. K., Safronova A. A. et al. Indoor radon concentrations in the Vitebsk, Mogilev and Gomel regions of Belarus and assessment of the radon dose for the population. *Doklady Natl Acad Sci Belarus*. 2019; 63(1): 87–95. (in Russian)

8. Conducting radiation-hygienic inspection of residential and public buildings. metod. ukazaniya MUK RB № 11-8-6-2002 / M-vo zdravoohraneniya Resp. Belarus, Resp. tsentr gigeniy i epidemiologii. Minsk; 2002. (in Russian)

9. Radiation safety requirements: sanitarnyye normy i pravila: utv. Postanovleniem M-va zdravoohraneniya Resp. Belarus ot 28 dek. 2012 g. № 213. In: *ilex: inform. pravovaya sistema* (accessed 23 September 2024). (in Russian)

e-mail для переписки: dashka.lukyanova@mail.ru

Поступила 23.09.2024

УДК 614.876:621.311.25

Николаенко Е. В., Бабич Е. А.

ДОЗЫ ВНУТРЕННЕГО ОБЛУЧЕНИЯ НАСЕЛЕНИЯ, ПРОЖИВАЮЩЕГО В ЗОНЕ НАБЛЮДЕНИЯ ИГНАЛИНСКОЙ АЭС НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ, ОТ ПОТРЕБЛЕНИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ В 2023 ГОДУ

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. В данной статье представлены результаты собственных исследований оценки годовых эффективных доз (далее – ГЭД) внутреннего облучения населения, проживающего в радиусе 30 км (зона наблюдения) вокруг Игналинской АЭС в Браสลавском районе Витебской области Республики Беларусь в 2023 г. и содержания техногенных радионуклидов в исследуемом регионе в пищевых продуктах, таких как корнеплоды и рыба. В 2023 г. максимальные значения уровней содержания техногенных радионуклидов в пищевых продуктах в 5 реперных населенных пунктах (далее – РНП) (Браслав, Видзы, Дрисвяты, Карасино, Опса) составили для ^{137}Cs в картофеле – 0,5 Бк/кг, в свекле – 0,4 Бк/кг, в моркови – 0,3 Бк/кг, в рыбе – 0,8 Бк/кг; для ^{90}Sr в картофеле – 1,01 Бк/кг, в свекле – 0,64 Бк/кг, в моркови – 0,45 Бк/кг, в рыбе – 0,59 Бк/кг, а максимальное значение ГЭД внутреннего облучения населения ^{137}Cs и ^{90}Sr от потребления данных пищевых продуктов (корнеплоды, рыба) было установлено для возрастной группы «дети 12–17 лет» и составило 18,4 мкЗв/год, а для взрослого населения – 7,6 мкЗв/год. Полученные результаты оценены в сравнении с результатами исследований на территории Литвы.

Ключевые слова: радионуклид, удельная активность, Игналинская АЭС, пищевые продукты, годовая эффективная доза, население.

Введение. Согласно рекомендациям МАГАТЭ и действующему законодательству Республики Беларусь требуется проводить оценку радиационной безопасности населения в ситуации планируемого облучения, в частности, при эксплуатации объектов использования атомной энергии, в том числе расположенных вблизи границ Республики Беларусь (трансграничное воздействие). Оценка осуществляется на всех этапах жизненного цикла ядерных объектов и итогом является оценка доз облучения и риска здоровью населения, для такой оценки могут быть использованы данные радиационно-гигиенического мониторинга (далее – РГМ). РГМ в Республике Беларусь проводится учреждениями государственного санитарного надзора Министерства здравоохранения Республики Беларусь на территории, входящей в зону воздействия ядерных и радиационных объектов, и включает в себя оценку радиационно-гигиенической обстановки, доз облучения и риска здоровью человека.

На территории Литовской Республики, недалеко от границы Республики Беларусь, расположена ядерная установка – Игналинская АЭС, которая эксплуатировалась 26 лет (1983–2009 гг.), а начиная с 2010 г. выводится из эксплуатации, на площадке станции ведется демонтаж оборудования и систем. В связи с выводом из эксплуатации на площадке станции хранятся и захораниваются радиоактивные отходы, хранится отработанное ядерное топливо, и по состоянию на 2023 г. находится 9 ядерных объектов (пункты переработки, захоронения и долговременного хранения радиоактивных отходов, отработанного ядерного топлива) с проектным суммарным годовым выбросом радионуклидов

в атмосферный воздух порядка 10^{15} Бк, сравнимым с суммарным выбросом двух энергоблоков Белорусской АЭС, а сброс в водную среду составляет 10^{10} Бк [1]. С территории Игналинской АЭС в течение всего периода эксплуатации и по настоящее время происходит сброс радиоактивных веществ в озеро Дрисвяты, находящееся частично на территории Республики Беларусь, и используемое населением для хозяйственных и рекреационных нужд, в том числе рыболовства.

По данным ГУ «Республиканский центр по гидрометеорологии, контролю радиоактивного загрязнения и мониторингу окружающей среды» на территории Республики Беларусь, входящей в зону влияния (радиус 30 км) Игналинской АЭС, регулярно проводится радиационный мониторинг объектов природной среды, таких как атмосферный воздух, поверхностные воды и почва. Учреждения, осуществляющие государственный санитарный надзор, в рамках радиационного контроля в этом регионе также проводят исследования по определению уровня содержания радионуклидов в пищевых продуктах и питьевой воде, но оценка ГЭД облучения населения, проживающего на данной территории, до настоящего времени не выполнялась.

В статье изложены результаты собственных исследований, проведенных в рамках научно-исследовательской работы в 2023 г.

Цель работы – оценить ГЭД внутреннего облучения населения от потребления местных пищевых продуктов в зоне наблюдения Игналинской АЭС на территории Республики Беларусь.

Материалы и методы. В 2023 г. отбор проб пищевых продуктов (корнеплоды: морковь, картофель и свекла) проводился из личных подсобных хозяйств 5 РНП Браславского района Витебской области, находящихся в зоне воздействия Игналинской АЭС: Видзы, Опса, Браслав, Дрисвяты, Карасино, а проб рыб – из озера Дрисвяты.

Объекты исследования: пищевые продукты (морковь, свекла, картофель), выращенные в личных подсобных хозяйствах, рыба из озера Дрисвяты, население, проживающее в зоне воздействия Игналинской АЭС на территории Республики Беларусь.

В пищевых продуктах были проведены измерения по определению содержания техногенных радионуклидов: ^{137}Cs , ^{90}Sr – в моркови, свекле и картофеле, ^{137}Cs , ^{90}Sr , ^{60}Co , ^{54}Mn – в рыбе.

В 2023 г. в 5 РНП Браславского района Витебской области было отобрано 19 проб пищевых продуктов, из них 9 проб картофеля, 4 пробы свеклы, 4 пробы моркови и 2 пробы рыбы из озера Дрисвяты.

Измерение указанных радионуклидов в пробах пищевых продуктах проводилось методами, включенными в перечень методик радиационного контроля, действующих на территории Республики Беларусь: ^{90}Sr – радиохимическим методом, ^{137}Cs , ^{60}Co , ^{54}Mn – методом прямых измерений на гамма-спектрометрах с полупроводниковыми детекторами.

Оценка ГЭД внутреннего облучения населения в данной работе проводилась, исходя из консервативного подхода: пищевые продукты загрязнены радионуклидами на уровне полученных максимальных значений удельной активности радионуклида (значения ниже МДА метода не использованы в расчете), годовое потребление пищевых продуктов принято равным уровню потребления репрезентативным лицом. ГЭД внутреннего облучения населения от потребления пищевых продуктов, проживающего в РНП Браславского района Витебской области, оценена для 5 возрастных групп населения: дети 1–2 года, дети 2–7 лет, дети 7–12 лет, дети 12–17 лет, взрослые (старше 17 лет), исходя из потребления пищевых продуктов, которое скорректировано с учетом нормы по возрасту [2].

Результаты и их обсуждение. В результате выполненных исследований по содержанию техногенных радионуклидов в пищевых продуктах в 2023 г. максимальные значения удельной активности ^{137}Cs в картофеле, свекле и моркови составили 0,5 Бк/кг (г. Браслав), 0,4 Бк/кг (д. Опса) и 0,3 Бк/кг (д. Опса), соответственно, а ^{90}Sr – 1,01 Бк/кг (г. Браслав), 0,64 Бк/кг (д. Опса) и 0,45 Бк/кг (д. Опса). Результаты измерений уровней содержания ^{137}Cs и ^{90}Sr в пищевых продуктах (корнеплоды, рыба) представлены в таблице 1. Удельная активность ^{60}Co и ^{54}Mn в исследуемых пробах рыбы была менее МДА метода.

Таблица 1 – Результаты измерений ^{137}Cs и ^{90}Sr в пробах пищевых продуктов в 5 РНП Браславского района в 2023 г.

Радионуклиды	Удельная активность, Бк/кг			
	Картофель	Свекла	Морковь	Рыба (лещ)
^{137}Cs	< 0,4–0,5	< 0,5–0,4	< 0,3–0,3	0,6–0,8
^{90}Sr	< 0,16–1,01	< 0,13–0,64	< 0,3–0,45	0,45–0,59

Полученные результаты измерений содержания ^{137}Cs и ^{90}Sr в пищевых продуктах (морковь, свекла и картофель) из личных подсобных хозяйств и рыбы из озера Дрисвяты по выполненным исследованиям в 2023 г. не превышают установленных референтных уровней [3].

В 2023 г. максимальное значение ГЭД внутреннего облучения населения от потребления пищевых продуктов (корнеплоды, рыба), загрязненных техногенными радионуклидами, составило 18,4 мкЗв/год для возрастной группы – дети 12–17 лет, а для взрослого человека – 7,6 мкЗв/год. По результатам расчета ^{90}Sr вносит максимальный вклад – около 90 % в ГЭД внутреннего облучения населения от потребления пищевых продуктов (таблица 2, рисунок 1).

Таблица 2 – Максимальная ГЭД внутреннего облучения ^{137}Cs и ^{90}Sr населения разных возрастных групп от потребления пищевых продуктов в 2023 г.

Радионуклиды	ГЭД, мкЗв/год				
	Дети 1–2 года	Дети 2–7 лет	Дети 7–12 лет	Дети 12–17 лет	Взрослые (старше 17 лет)
^{137}Cs	0,7	0,8	1,0	1,6	1,6
^{90}Sr	7,7	6,4	10,3	16,8	6,0
Суммарная	8,4	7,2	11,3	18,4	7,6

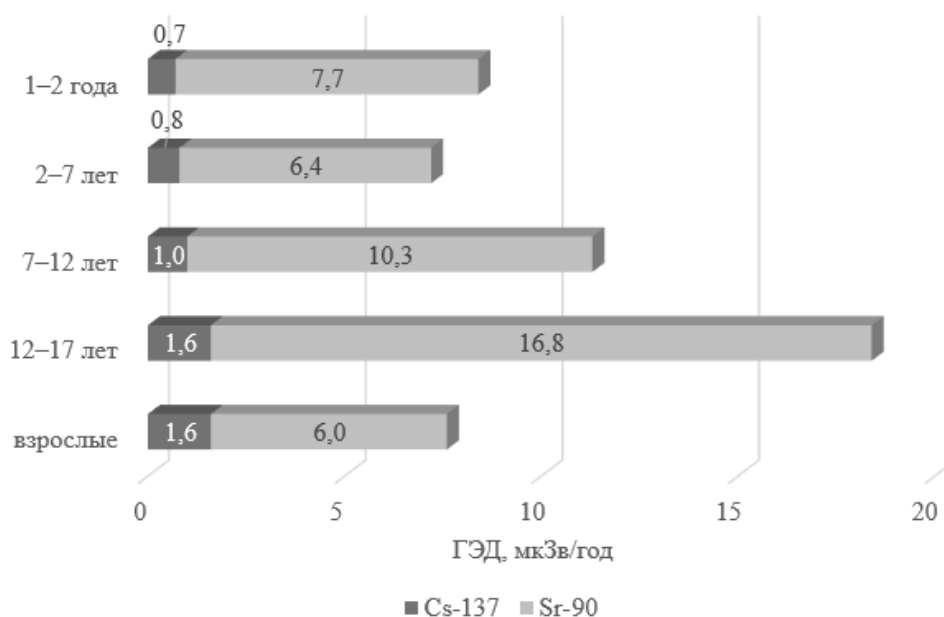


Рисунок 1 – ГЭД внутреннего облучения разных возрастных групп населения Браславского района Витебской области от потребления пищевых продуктов в 2023 г.

Для сравнительной оценки полученных результатов исследований использованы данные о результатах измерений содержания ^{137}Cs и ^{90}Sr в пищевых продуктах и дозах облучения населения в зоне наблюдения Игналинской АЭС на территории Литвы в 2022 г. [3].

Уровни содержания ^{137}Cs и ^{90}Sr в пищевых продуктах на территории Литвы вокруг Игналинской АЭС от потребления пищевых продуктов из личных подсобных хозяйств и рыбы, выловленной в озере Дрисвяты (таблица 3), сопоставимы с результатами собственных исследований, выполненных на территории Республики Беларусь в 2023 г. (таблица 2).

Таблица 3 – Уровни содержания ^{137}Cs и ^{90}Sr в пищевых продуктах в 2022 г. на территории Литвы вокруг Игналинской АЭС

Радионуклид	Пищевые продукты			
	Рыба / лещ	Картофель	Молоко	Капуста
^{137}Cs	0,98 / 0,73	< 0,2	–	< 0,5
^{90}Sr	0,07 / 0,33	< 0,14	< 0,03	0,06
Доза облучения, мкЗв	0,265	–	–	0,175

ГЭД внутреннего облучения техногенными радионуклидами взрослого населения Литовской Республики от потребления местных пищевых продуктов и рыбы в 2022 г. составила 0,44 мкЗв/год, что значительно ниже максимальной ГЭД взрослого населения Республики Беларусь в 2023 г. (7,6 мкЗв/год) по результатам собственных исследований. Значительные различия в ГЭД на территориях Литвы и Республики Беларусь могут быть обусловлены большими неопределенностями в результатах исследований содержания радионуклидов в продуктах в связи с очень низкими уровнями радиоактивного загрязнения пищевых продуктов и исследуемой территории. Данные различия могут нивелироваться за счет использования более высокоточных методов исследований, увеличения количества измерений и объема проб продуктов.

Заключение. По результатам проведенных исследований в 2023 г. максимальное значение ГЭД внутреннего облучения ^{137}Cs и ^{90}Sr населения, которое проживает в РНП Браславского района Витебской области, входящих в зону наблюдения Игналинской АЭС, от потребления пищевых продуктов составило 18,4 мкЗв/год для группы дети 12–17 лет, а для взрослого человека – 7,6 мкЗв/год. Уровни содержания ^{137}Cs и ^{90}Sr в пищевых продуктах (корнеплоды) из личных подсобных хозяйств и рыбе из озера Дрисвяты в 2023 г. не превысили установленных нормативов [4] и были сопоставимы с результатами исследований, полученными на территории Литвы. Однако проведение РГМ в данном регионе необходимо продолжить с целью контроля радиационной обстановки и дальнейшей оценки доз облучения населения на территориях вокруг воздействия Игналинской АЭС.

Сведения о НИР. НИР «Научно обосновать и разработать систему проведения радиационно-гигиенического мониторинга в ситуации планируемого облучения в Республике Беларусь» подпрограммы «Безопасность среды обитания человека» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг» на 2021–2025 гг., регистрационный номер 20192308.

Литература

1. Interim Storage of the Spent Nuclear Fuel from the Ignalina NPP RBMK Units 1 and 2. Environmental Impact Assessment Report, rev. 4, issued 2007-10-24. Consortium GNS-NUKEM, Lietuvos energetikos institutas, 2007. – URL : https://www.iaea.lt/data/public/uploads/2019/03/dnr_111097_5_eia_report_en.pdf. (date of access: 20.10.2023).

2. Radiation Protection and Safety of Radiation Sources. General Safety Requirements Part 3 / International Atomic Energy Agency. – Vienna : IAEA, 2014. – 436 p.

3. Concerning environment impact assessment of dismantling and decontamination of equipment from the working areas R1 and R2 of the Ignalina nuclear power plant unit 2 reactor (project 2102) / The Min. of environ. of the Rep. of Lithuania. – URL : https://am.lrv.lt/uploads/am/documents/files/LT%20atsakymas%20Baltarusijai_20220422.pdf (date of access: 20.09.2024).

4. Критерии оценки радиационного воздействия : гигиен. норматив: утв. постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 25.01.2021 № 37 : в ред. постановления Совета Министров Республики Беларусь от 29 ноября 2022 г. № 829. – КонсультантПлюс. Беларусь. Минск, 2022.

Nikalayenka A. U., Babich A. A.

INTERNAL DOSES OF THE PUBLIC LIVING IN THE OBSERVATION ZONE OF THE IGNALINA NPP IN THE REPUBLIC OF BELARUS FROM FOOD CONSUMPTION IN 2023

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

There are the research results of studies to determine the level of technogenic radionuclides in food, such as root vegetables and fish, and assessment of the annual effective doses (hereinafter referred to as AED) of internal exposure of the population living within a 30 km radius (observation zone) from the Ignalina NPP in the Braslav district of the Vitebsk region of the Republic of Belarus in 2023 in the article. The radionuclides maximum levels in food in 5 reference settlements (hereinafter referred to as RSC) (Braslav, Vidzy, Drysvyaty, Karasino, Opsa) were for ^{137}Cs : in potatoes – 0,5 Bq/kg, in beets – 0,4 Bq/kg, in carrots – 0,3 Bq/kg and in fish – 0,8 Bq/kg; for ^{90}Sr : in potatoes – 1,01 Bq/kg, in beets – 0,64 Bq/kg, in carrots – 0,45 Bq/kg, in fish – 0,59 Bq/kg. In 2023 the maximum of the AED of ^{137}Cs and ^{90}Sr from food consumption (root crops, fish) for the population was 18,4 $\mu\text{Sv}/\text{year}$ for 12-17 years old and 7,6 $\mu\text{Sv}/\text{year}$ for the adult person. The obtained results were evaluated in comparison with the results of studies in Lithuania.

Keywords: radionuclide, specific activity, Ignalina NPP, food, annual effective dose, public.

References

1. Interim Storage of the Spent Nuclear Fuel from the Ignalina NPP RBMK Units 1 and 2. Environmental Impact Assessment Report, rev. 4, issued 2007-10-24. Consortium GNS -NUKEM, Lietuvos energetikos institutas, 2007 [Electronic resource]. – Access mode: https://www.iaea.lt/data/public/uploads/2019/03/dnr_111097_5_eia_report_en.pdf (accessed 20 October 2023).

2. Radiation Protection and Safety of Radiation Sources. General Safety Requirements Part 3 / International Atomic Energy Agency. – Vienna : IAEA, 2014. – 436 p.

3. Concerning environment impact assessment of dismantling and decontamination of equipment from the working areas R1 and R2 of the Ignalina nuclear power plant unit 2 reactor (project 2102). The Min. of environ. of the Rep. of Lithuania. Available at: https://am.lrv.lt/uploads/am/documents/files/LT%20atsakymas%20Baltarusijai_20220422.pdf (accessed 20 September 2024).

4. Criteria for assessing radiation exposure: [Electronic resource] hygiene. standard : approved by Decree of the Council of Ministers of the Republic of Belarus dated January 25, 2021 No. 37: as amended by the Decree of the Council of Ministers of the Republic of Belarus dated November 29, 2022 No. 829. ConsultantPlus. Belarus. Minsk, 2022 [(in Russian)].

e-mail для переписки: nikolaenko67@gmail.com, aljenababich@gmail.com

Поступила 23.09.2024

УДК 614.876:621.311.25(476)

Николаенко Е. В., Елизарова Н. В., Жукова О. М., Гусейнова Д. И.

РАДИОАКТИВНОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ И ГОДОВЫЕ ЭФФЕКТИВНЫЕ ДОЗЫ ОБЛУЧЕНИЯ НАСЕЛЕНИЯ ВОКРУГ БЕЛОРУССКОЙ АЭС

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. В статье представлены результаты исследований по оценке радиационной безопасности питьевой воды из источников питьевого водоснабжения в 8 реперных населенных пунктах (далее – РНП) в зоне наблюдения (далее – ЗН) Белорусской АЭС и г. Островец в доэксплуатационный период и при эксплуатации Белорусской АЭС и годовые эффективные дозы (далее – ГЭД) внутреннего облучения местного населения от потребления питьевой воды.

В доэксплуатационный период (2017–2020 гг.) максимальное значение объемной суммарной α -активности в питьевой воде (далее – A_{α}) было обнаружено в колодце из а. г. Чехи – 2,42 Бк/л, объемной суммарной A_{β} -активности (далее – A_{β}) в колодце в а. г. Гервяты – 3,43 Бк/л, при этом удельная активность ^{137}Cs и ^{90}Sr примерно в 90 % проб не превышала минимальной детектируемой активности (далее – МДА), а максимальные значения составили ^{137}Cs – 0,004 Бк/л, ^{90}Sr – 0,009 Бк/л.

В 2022–2023 гг. при эксплуатации Белорусской АЭС максимальное значение A_{α} в питьевой воде составляло 0,14 Бк/л в колодце а. г. Михалишки, A_{β} – 2,74 Бк/л в колодце в а. г. Гервяты. Содержание ^{137}Cs в питьевой воде из колодца в д. Ворняны составило 1,37 Бк/л, в остальных пробах содержание ^{137}Cs и ^{90}Sr из артезианских скважин и колодцев не превышало МДА.

Суммарная ГЭД внутреннего облучения от потребления питьевой воды детского населения составила в доэксплуатационном этапе и при эксплуатации 0,10–0,53 мЗв, взрослых составила около 0,11–0,15 мЗв и превысила референтный уровень дозы облучения от потребления питьевой воды (0,1 мЗв/год). Наибольший вклад в дозу внесли ^{228}Ra , ^{226}Ra и для детей 13–17 лет ГЭД составила 0,17 мЗв, ГЭД облучения ^{222}Rn оценена для взрослого населения и составила 0,05 мЗв.

Ключевые слова: радионуклид, объемная активность, Белорусская АЭС, зона наблюдения, питьевая вода, годовая эффективная доза облучения, население.

Введение. Законом Республики Беларусь от 18 июня 2019 г. № 198-З «О радиационной безопасности» и международными рекомендациями установлено, что одной из составляющих оценки безопасности радиационных объектов для населения является оценка ГЭД облучения населения, в том числе от потребления питьевой воды.

Для сравнительной оценки уровней содержания природных и техногенных радионуклидов в питьевой воде, загрязнение которой потенциально возможно от сбросов радиоактивных веществ в период эксплуатации АЭС, как правило, используются результаты радиационного мониторинга при эксплуатации в сравнении с доэксплуатационным периодом – «фоновыми» уровнями радиоактивного загрязнения питьевой воды.

В соответствии с Программой радиационно-гигиенического мониторинга в ЗН Белорусской АЭС проводится радиационно-гигиенический мониторинг питьевой воды из колодцев и скважин в 15 РНП, используемой населением в качестве источников питьевого водоснабжения. Основными измеряемыми радиологическими параметрами в пробах питьевой воды являются объемная активность природных и техногенных радионуклидов. Природные радионуклиды присутствуют в источниках питьевого водоснабжения повсеместно, присутствие техногенных радионуклидов в источниках питьевого водоснабжения в ЗН Белорусской АЭС обусловлено глобальными выпадениями вследствие испытаний ядерного оружия, а также «чернобыльскими» выпадениями.

В рамках научных исследований были выполнены измерения уровней радиоактивного загрязнения питьевой воды природными и техногенными радионуклидами и оценка ГЭД внутреннего облучения населения от потребления питьевой воды для источников водоснабжения с наибольшими уровнями содержания природных радионуклидов в выбранных населенных пунктах в ЗН БелАЭС и г. Островец. Результаты исследований использованы при разработке программы и метода радиационно-гигиенического мониторинга и оценки радиационной безопасности населения, проживающего в ЗН Белорусской АЭС и г. Островец.

Цель работы – определить уровни содержания радионуклидов в питьевой воде централизованных (артезианские скважины) и децентрализованных (колодцы) источников питьевого водоснабжения вокруг Белорусской АЭС и оценить ГЭД внутреннего облучения населения от потребления питьевой воды.

Материалы и методы. Объектом исследования являлась питьевая вода из централизованных (артезианские скважины) и нецентрализованных (колодцы) источников питьевого водоснабжения и ГЭД внутреннего облучения населения, проживающего в 8 РНП в ЗН Белорусской АЭС (Ворняны, Трокеники-1, Гоза, Бобровники, Чехи, Гервяты, Михалишки, Нидяны) и г. Островец.

На этапе эксплуатации Белорусской АЭС в 2022–2023 гг. выполнены исследования 17 проб питьевой воды из 12 источников водоснабжения (6 артскважин и 6 колодцев) в выбранных 8 РНП и г. Островце, расположенных в ЗН Белорусской АЭС.

Исследования проводились в два этапа. На 1-м этапе были выполнены скрининговые исследования для определения A_{α} и A_{β} и техногенных радионуклидов (^{137}Cs и ^{90}Sr) выбранных РНП. В случае обнаружения несоответствия проб питьевой воды по показателям A_{α} и A_{β} (0,5 и 1,0 Бк/л соответственно), установленным гигиеническим нормативом «Критерии оценки радиационного воздействия», утвержденным постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 21 января 2021 г. № 37 (далее – ГН 2022) [1], далее переходили к этапу 2.

На 2-м этапе с учетом полученных результатов и данных об уровнях радиоактивного загрязнения источников водоснабжения в ЗН БелАЭС в доэксплуатационный период (2017–2020 гг.) и на 1-м этапе исследований было выбрано 3 колодца из 3 РНП (а. г. Ворняны, Гервяты и Михалишки), где были установлены наиболее высокие значения A_{α} и A_{β} , были проведены измерения содержания техногенных (^{137}Cs , ^{90}Sr) и природных (^{40}K , ^{210}Po , ^{210}Pb , ^{226}Ra , ^{228}Ra , ^{232}Th , ^{238}U), а также измерения 22 проб питьевой воды централизованного и нецентрализованного водоснабжения в 16 НП в ЗН Белорусской АЭС по содержанию ^{222}Rn , выполненные аттестованной лабораторией ГНУ «Объединенный институт энергетических и ядерных исследований – Сосны» НАН Беларуси (далее – ОИЭЯИ-Сосны).

РНП были выбраны на основании полученных ранее данных о фоновых уровнях содержания радионуклидов в питьевой воде. Приоритет был отдан источникам питьевого водоснабжения, охватывающим наибольшую численность населения и с максимальным уровнем содержания радионуклидов в питьевой воде по данным предыдущих исследований в доэксплуатационный период Белорусской АЭС.

Исследования были выполнены аттестованными лабораториями научно-исследовательского института гигиены, токсикологии, эпидемиологии, вирусологии и микробиологии государственного учреждения «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», РУП «Белорусский государственный институт метрологии» и ОИЭЯИ-Сосны.

При выполнении исследований использовались аттестованные в Республике Беларусь методы выполнения измерений.

Для оценки ГЭД внутреннего облучения населения использованы консервативные условия: максимальные значения объемных активностей радионуклидов в питьевой воде, наибольшие объемы потребления питьевой воды всеми возрастными группами. В случае отсутствия репрезентативного результата измерения в качестве данных об объемной активности радионуклида в продукте использовались значения ½ МДА метода.

Значения ГЭД облучения от ^{222}Rn в питьевой воде оценивались только для возрастной группы – взрослые (старше 17 лет). Значение ожидаемой эффективной дозы облучения населения на единицу перорального поступления питьевой воды для взрослых принималось равным $3,5 \times 10^{-9}$ Зв/Бк в соответствии с рекомендациями НКДАР ООН.

Результаты и их обсуждение. На доэксплуатационном этапе Белорусской АЭС в 2017–2020 гг. для оценки фоновых уровней содержания радионуклидов в питьевой воде из используемых населением основных источников питьевого водоснабжения были исследованы пробы питьевой воды из артезианских скважин и колодцев, расположенных в 15 РНП в ЗН Белорусской АЭС, для последующей оценки влияния деятельности станции на радиационную безопасность населения.

В результате проведенных на доэксплуатационном этапе исследований было установлено, что в единичных пробах питьевой воды, отобранных из централизованных источников водоснабжения в 5 РНП ЗН Белорусской АЭС (Гервяты, Чехи, Ворняны, Михалишки и Нидяны) A_α и A_β превысили нормативы, установленные ГН 2022 [1], максимальное значение A_α в питьевой воде было обнаружено в колодце в а. г. Чехи – 2,42 Бк/л, а A_β в колодце в а. г. Гервяты – 3,43 Бк/л.

В пробах питьевой воды, в которых были установлены превышения A_α и (или) A_β из централизованных и нецентрализованных источников питьевого водоснабжения, были выполнены исследования для определения содержания природных радионуклидов (изотопного состава). В результате этих исследований были установлены следующие максимальные уровни объемной активности природных радионуклидов: ^{210}Po – до 0,002 Бк/л (наибольшие значения в пробах питьевой воды из колодцев в а. г. Гервяты и Ворняны), ^{210}Pb – до 0,009 Бк/л (а. г. Ворняны), ^{226}Ra – 0,08 Бк/л (а. г. Ворняны), ^{228}Ra – до 0,07 Бк/л (а. г. Гервяты), ^{238}U – до 0,04 Бк/л (а. г. Гервяты и д. Нидяны), ^{232}Th – менее МДА. Было установлено, что превышения A_β были обусловлены повышенным содержанием природного ^{40}K , содержание которого в питьевой воде составило от 0,1 до 4,1 Бк/л, однако необходимо отметить, что удельная активность ^{40}K в питьевой воде не нормируется.

Объемные активности ^{137}Cs и ^{90}Sr не превысили референтных уровней, в том числе в 90 % проб не превысили МДА метода, в 2 пробах питьевой воды были обнаружены следовые количества ^{137}Cs – объемная активность составила 0,004 Бк/л (Рытань, Чехи), в 4 пробах объемная активность ^{90}Sr составила 0,004–0,009 Бк/л (Подольцы, Рытань, Бобровники) [1, 2].

В период эксплуатации Белорусской АЭС в 2022–2023 гг. все пробы питьевой воды по значениям A_α соответствовали, A_β превысили установленные нормативы [1]. На этапе эксплуатации максимальные значения A_α питьевой воды из артскважин были выявлены в а. г. Гервяты (2022 г.) – 0,13 Бк/дм³ и в колодезной воде в а. г. Михалишки (2022 г.) – 0,14 Бк/дм³. В остальных 10 пробах питьевой воды максимальная A_β составила 2,74 Бк/дм³ (а. г. Гервяты), из них в 7 пробах значения были ниже МДА метода (< 0,1 Бк/дм³). Содержание ^{137}Cs в пробах питьевой воды в период эксплуатации достигало 1,35 Бк/л (колодец в Ворнянах), а ^{90}Sr было менее МДА (< 0,1 Бк/л) во всех 17 пробах (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты измерений A_α и A_β и объемной активности ^{137}Cs и ^{90}Sr в питьевой воде в отдельных РНП в ЗН Белорусской АЭС

РНП	Тип источника, количество проб, шт.	Объемная активность, Бк/дм ³							
		Доэксплуатационный этап (2017–2020 гг.)				Эксплуатация (2022–2023 гг.)			
		A_α	A_β	^{137}Cs	^{90}Sr	A_α	A_β	^{137}Cs	^{90}Sr
Ворняны	Колодец, 3	< 0,01–1,18	0,12–2,08	< 3,0	< 0,1	0,019–0,03	0,58–0,80	1,35	< 0,15
Трокеники-1	Артскважина, 1	0,13–0,18	< 0,1–0,14	< 3,0	< 0,1	< 0,01	< 0,1	< 3,7	< 0,15
	Колодец, 1	< 0,01–0,49	0,23–0,64	< 3,7	< 0,1	0,047	0,43	< 3,7	< 0,15
Гоза	Артскважина, 1	< 0,01–0,28	< 0,1–0,22	< 3,0	< 0,1	0,031	< 0,1	< 3,7	< 0,15
Бобровники	Артскважина, 1	< 0,01–0,61	< 0,1–0,38	< 3,0	0,009	0,071	< 0,1	< 3,7	< 0,15

НП	Тип источника, количество проб, шт.	Объемная активность, Бк/дм ³							
		Дозэксплуатационный этап (2017–2020 гг.)				Эксплуатация (2022–2023 гг.)			
		A _α	A _β	¹³⁷ Cs	⁹⁰ Sr	A _α	A _β	¹³⁷ Cs	⁹⁰ Sr
Чехи	Колодец, 1	< 0,01–2,42	< 0,1–0,96	0,004	< 0,1	0,051	< 0,1	< 3,7	< 0,15
Гервяты	Артскважина, 1	< 0,02–0,98	< 0,1–0,16	< 3,0	< 0,1	0,13	< 0,1	< 3,7	< 0,15
	Колодец, 3	< 0,01–0,55	< 0,1–3,43	< 3,7	0,17	< 0,01–0,03	0,73–2,74	< 3,7	< 0,15
Михалишки	Колодец, 2	< 0,01–0,74	0,62–2,2	< 3,7	< 0,1	0,08–0,14	0,16–0,20	< 3,7	< 0,15
Нидяны	Колодец, 1	< 0,01–0,376	< 0,1–1,81	< 3,7	< 0,1	0,058	1,11	< 3,7	< 0,15
Островец	Артскважина, 2	–	–	–	–	0,014–0,065	< 0,1	< 3,7	< 0,15

В 2022–2023 гг. содержание природных радионуклидов (⁴⁰K, ²¹⁰Po, ²¹⁰Pb, ²²⁶Ra, ²²⁸Ra, ²³²Th, ²³⁸U) в 3 пробах питьевой воды из колодцев, расположенных в а. г. Гервяты, Михалишки и Ворняны, не превысило установленных нормативов, объемные активности ²¹⁰Po, ²¹⁰Pb, ²³²Th, ²³⁸U не превышали МДА метода, содержание ²²⁶Ra и ²²⁸Ra составляли не более 0,03 Бк/дм³, ⁴⁰K – от 0,44 Бк/дм³ (колодец, а. г. Михалишки) до 4,0 Бк/дм³ (колодец, а. г. Гервяты) (таблица 2).

В результате исследований установлено, что объемная активность ²²²Rn в 16 обследованных НП составила от 13 до 24 Бк/л, превышений референтного уровня содержания ²²²Rn (60 Бк/л) в питьевой воде обнаружено не было.

Таблица 2 – Максимальное содержание природных радионуклидов в колодезной воде в ЗН Белорусской АЭС в доэксплуатационный период и при эксплуатации

РНП	Объемная активность, Бк/дм ³						
	⁴⁰ K	²¹⁰ Po	²¹⁰ Pb	²²⁶ Ra	²²⁸ Ra	²³² Th	²³⁸ U
РУ	10,0	0,1	0,1	1,0	0,1	1,0	10,0
Дозэксплуатационный этап							
Ворняны	2,10 ± 0,3	0,002 ± 0,001	0,009 ± 0,004	0,08 ± 0,03	0,05 ± 0,03	< 0,02	< 0,02
Гервяты	4,10 ± 1,0	0,001 ± 0,0005	0,008 ± 0,004	0,06 ± 0,03	0,07 ± 0,02	< 0,02	0,040 ± 0,004
Михалишки	2,57 ± 0,6	< 0,001	< 0,02	0,08 ± 0,03	0,05 ± 0,02	< 0,02	< 0,02
Эксплуатация							
Ворняны	1,10 ± 0,4	< 0,002	< 0,02	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,02	< 0,02	< 0,02
Гервяты	4,0 ± 1,3	< 0,002	< 0,02	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,02	< 0,02	< 0,02
Михалишки	0,44 ± 0,2	< 0,002	< 0,02	0,03 ± 0,01	0,03 ± 0,02	< 0,02	< 0,02

В соответствии с ГН 2022 окончательная оценка радиационной безопасности населения от употребления питьевой воды выполняется в сравнении с референтным уровнем дозы внутреннего облучения населения от природных и техногенных радионуклидов 0,1 мЗв/год, при превышении которой требуется рассмотреть вопрос о необходимости смены источника питьевого водоснабжения. На основании полученных результатов исследований в ЗН Белорусской АЭС выполнена оценка ГЭД облучения для всех возрастных групп населения в выбранных 3 РНП с наибольшими уровнями содержания природных радионуклидов (таблица 3).

Таблица 3 – ГЭД облучения различных возрастных групп населения от потребления колодезной питьевой воды в выбранных 3 РНП в ЗН Белорусской АЭС

НП	Радионуклид	ГЭД, мЗв									
		До ввода в эксплуатацию					В период эксплуатации				
		1–2	3–7	8–12	13–17	> 17	1–2	3–7	8–12	13–17	> 17
Ворняны	Природные	0,27	0,20	0,27	0,48	0,09	0,12	0,10	0,12	0,19	0,04
	Техногенные	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02
	Итого	0,28	0,21	0,28	0,50	0,11	0,13	0,11	0,13	0,21	0,06

НП	Радионуклид	ГЭД, мЗв									
		До ввода в эксплуатацию					В период эксплуатации				
		1–2	3–7	8–12	13–17	> 17	1–2	3–7	8–12	13–17	> 17
Гервяты	Природные	0,31	0,24	0,30	0,51	0,10	0,17	0,12	0,14	0,20	0,06
	Техногенные	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02
	Итого	0,32	0,25	0,31	0,53	0,12	0,18	0,13	0,15	0,22	0,08
Михалишки	Природные	0,24	0,18	0,24	0,43	0,08	0,11	0,09	0,12	0,18	0,04
	Техногенные	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02
	Итого	0,25	0,19	0,25	0,45	0,10	0,12	0,10	0,13	0,20	0,06

Значения ГЭД облучения населения от природных радионуклидов (^{40}K , ^{210}Po , ^{210}Pb , ^{226}Ra , ^{228}Ra , ^{232}Th , ^{238}U), содержащихся в колодезной воде во всех 3 РНП, превысили референтный уровень дозы, максимальные значения ГЭД облучения природными радионуклидами в а. г. Гервяты и составили:

на доэксплуатационном этапе: дети 1–2 года – 0,31 мЗв, 3–7 лет – 0,24 мЗв, 8–12 лет – 0,30 мЗв, 13–17 лет – 0,51 мЗв. Максимальное значение ГЭД облучения природными радионуклидами взрослых составило 0,1 мЗв (без учета вклада ^{222}Rn в питьевой воде);

на этапе эксплуатации: дети 1–2 года – 0,17 мЗв, 3–7 лет – 0,12 мЗв, 8–12 лет – 0,14 мЗв, 13–17 лет – 0,20 мЗв, взрослые – 0,06 мЗв без учета вклада ^{222}Rn (с учетом ^{222}Rn – 0,11 мЗв).

При эксплуатации Белорусской АЭС установлено, что максимальный вклад в ГЭД облучения детей во всех 3-х РНП будут вносить радионуклиды ^{228}Ra , ^{210}Pb и ^{226}Ra , а именно, ГЭД для детей 13–17 лет от ^{210}Pb и ^{226}Ra – по 0,03 мЗв, ^{228}Ra – 0,11 мЗв (рисунок 1).

Максимальную суммарную ГЭД внутреннего облучения природными радионуклидами от потребления питьевой воды в период эксплуатации – 0,20 мЗв/год получит детское население возрастной группы 13–17 лет в а. г. Гервяты, из них – 0,17 мЗв/год (85 %) за счет вклада $^{228,226}\text{Ra}$ и ^{210}Pb .

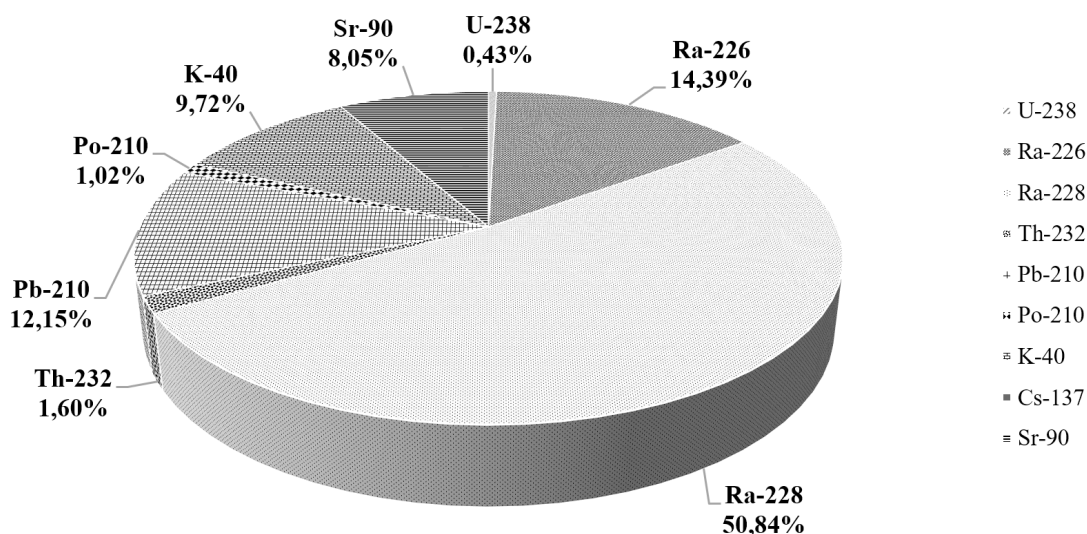


Рисунок 1 – Структура ГЭД детского населения 13–17 лет в а. г. Гервяты

Эффективная доза облучения взрослого населения от перорального поступления ^{222}Rn с питьевой водой в 16 НП ЗН Белорусской АЭС составляла от 0,03 до 0,07 мЗв/год, среднее значение составило 0,05 мЗв/год.

Во всех 3 РНП (Ворняны, Гервяты, Михалишки) ГЭД облучения ^{137}Cs и ^{90}Sr в питьевой воде оставались неизменными как на доэксплуатационном этапе, так и при эксплуатации, и для различных возрастных групп составляли: 1–2 года, 3–7 лет, 8–12 лет – 0,01 мЗв, 13–17 лет и взрослые – 0,02 мЗв.

В результате выполненных исследований установлено, что суммарная доза внутреннего облучения от природных и техногенных радионуклидов в питьевой воде превышена для взрослого и детского населения как на доэксплуатационном этапе, так и при эксплуатации АЭС, что было обусловлено присутствием природных радионуклидов. Суммарная ГЭД детского населения составляет:

Ворняны: 0,21–0,50 мЗв/год и 0,11–0,21 мЗв/год;
Гервяты: 0,25–0,53 мЗв/год и 0,13–0,22 мЗв/год;
Михалишки: 0,19–0,45 мЗв/год и 0,10–0,20 мЗв/год, соответственно.

Для взрослого населения максимальная суммарная ГЭД облучения от потребления питьевой воды, содержащей природные и техногенные радионуклиды во всех 3-х НП составляла 0,08 мЗв, а с учетом вклада ^{222}Rn – 0,15 мЗв, что превышает референтный уровень дозы облучения населения от потребления питьевой воды.

Заключение. Полученные результаты оценки уровней радиоактивного загрязнения питьевой воды как на доэксплуатационном этапе, так при эксплуатации Белорусской АЭС позволили оценить ГЭД внутреннего облучения населения природными и техногенными радионуклидами в питьевой воде и оценить вклад отдельных радионуклидов в суммарную ГЭД облучения.

В доэксплуатационный период Белорусской АЭС (2017–2020 гг.) максимальное значение A_{α} в питьевой воде составило 2,42 Бк/л в а. г. Чехи, а A_{β} в колодце 3,43 Бк/л в а. г. Гервяты. Удельная активность ^{137}Cs и ^{90}Sr примерно в 90 % проб не превышала МДА, а максимальные значения составили ^{137}Cs – 0,004 Бк/л, ^{90}Sr – 0,009 Бк/л.

В период эксплуатации (2022–2023 гг.) A_{α} составляла 0,14 Бк/л, а A_{β} – 2,74 Бк/л в а. г. Гервяты. В период эксплуатации объемная активность ^{137}Cs в питьевой воде составила 1,37 Бк/л (колодец в Ворнянах), в остальных пробах содержание ^{137}Cs и ^{90}Sr не превышало МДА.

Значения суммарной ГЭД облучения от природных и техногенных радионуклидов в питьевой воде превысили референтный уровень дозы облучения населения от потребления питьевой воды (0,1 мЗв/год) для детского населения всех возрастных групп в ЗН БелАЭС в 3 РНП (Ворняны, Гервяты, Михалишки) и для разных возрастных групп находились в пределах 0,10–0,53 мЗв/год.

Для взрослого населения суммарная ГЭД облучения природными и техногенными радионуклидами (с учетом вклада ^{222}Rn) составила на этапе до и при эксплуатации 0,15 и 0,11 мЗв, соответственно, что также превышает референтный уровень дозы облучения от потребления питьевой воды (0,1 мЗв/год).

Полученные результаты исследований могут быть использованы для оценки вклада природных радионуклидов в суммарную ГЭД облучения населения, проживающего вокруг Белорусской АЭС.

Сведения о НИР. НИР «Разработать и научно обосновать метод оценки доз облучения населения на основе данных радиационного и радиационно-гигиенического мониторинга в зоне наблюдения при нормальной эксплуатации Белорусской АЭС» подпрограммы 3 «Научное обеспечение эффективной и безопасной работы Белорусской атомной электростанции и перспективных направлений развития атомной энергетики» Государственной программы «Наукоемкие технологии и техника» на 2021–2025 годы, регистрационный номер 20213266.

Литература

1. Критерии оценки радиационного воздействия: гигиенический норматив : утв. постановлением Совета Министров Респ. Беларусь от 25 янв. 2021 г. № 37 : в ред. постановления Совета Министров Респ. Беларусь от 29 нояб. 2022 г. № 829 // iLex : информ. правовая система (дата обращения: 20.09.2023).

2. Результаты исследований содержания радионуклидов в питьевой воде в зоне наблюдения Белорусской АЭС / О. М. Жукова Е. В. Николаенко, С. И. Сычик [и др.] // Журнал Белорусского государственного университета. Экология. – 2021. – № 1. – С. 62–68.

Nikalayenka A. U., Yelizarava N. U., Zhukova O. M., Huseinava D. I.

RADIOACTIVE CONTAMINATION OF DRINKING WATER AND ANNUAL EFFECTIVE DOSES TO THE PUBLIC LIVING AROUND OF THE BELARUSIAN NPP

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

The article presents the results of studies to assess the radiation safety of drinking water from drinking water supply sources in 8 reference settlements (RS) in the observation zone of the Belarusian NPP and the city of Ostrovets in the pre-operation period and during the operation of the NPP and annual effective doses (hereinafter – AED) of internal exposure of the local population from drinking water consumption.

In the pre-operation period (2017–2020), the maximum of the volumetric total α -activity in drinking water (hereinafter – A_{α}) was found in well in Czechy – 2.42 Bq/l, volumetric total β -activity (hereinafter – A_{β}) in a well in Gervyaty – 3.43 Bq/l, at the same time, the specific activity of ^{137}Cs and ^{90}Sr in approximately 90 % of the samples did not exceed the minimum detectable activity (hereinafter – MDA), and the maximum values were ^{137}Cs – 0.004 Bq/l, ^{90}Sr – 0.009 Bq/l.

In 2022–2023 during the operation of the Belarusian NPP the maximum value of A_a in drinking water was 0.14 Bq/l in a well in Mikhalishki, A_b – 2.74 Bq/l in a well in Gervyaty. The ^{137}Cs concentration in drinking water from a well in Vornyan was 1.37 Bq/l, in other samples the ^{137}Cs and ^{90}Sr concentration in artesian and wells water did not exceed MDA.

AED of internal exposure from the drinking water of children was 0.1–0.53 mSv at the pre-operational stage and during operation, for adults it was 0.11–0.15 mSv, which are exceeding the reference dose level from drinking water consumption (0.1 mSv/year). The largest contribution to the AED was made by ^{228}Ra , ^{226}Ra . GED for children 13-17 years old amounted to 0.17 mSv. The GED of ^{222}Rn exposure was estimated for the adult population and amounted to 0.05 mSv.

Keywords: Radionuclide, volumetric activity, Belarusian NPP, observation zone, drinking water, annual effective radiation dose, public.

References

1. Criteria for assessing radiation exposure: hygienic standards: approval by resolution of the Council of Ministers of the Republic of Belarus dated 25 January 2021 № 37 as amended by Resolution of the Council of Ministers of the Republic of Belarus dated 29 November 2022 № 829. In: *ilex: Inform. pravovaya sistema* (accessed 20 September 2023).

2. Zhukova O. M., Nikolaenko E. V., Sychik S. I. Results of studies of the content of radionuclides in drinking water in the observation zone of the Belarusian NPP. *J Belarusian State Univ. Ecology*. 2021; 1: 62–8.

e-mail для переписки: nikolaenko67@gmail.com

Поступила 11.10.2024

УДК 614.876:546.79:614.25(476)

Роздяловская Л. Ф., Николаенко Е. В., Гусейнова Д. И.

ДОЗЫ ВНУТРЕННЕГО ОБЛУЧЕНИЯ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ И НАСЕЛЕНИЯ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ^{131}I В ЯДЕРНОЙ МЕДИЦИНЕ

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Работники ядерной медицины, выполняющие процедуры с радиофармпрепаратами на основе радиоioda, подвергаются внешнему и внутреннему облучению, последнему, в основном, за счет ингаляционного поступления в организм радиоioda, присутствующего в воздухе рабочих помещений.

В Республике Беларусь обеспечивается контроль доз только внешнего облучения медицинских работников, дозы внутреннего облучения работников не контролируются. В настоящей работе представлены результаты расчетов годовых эффективных доз внутреннего облучения радиоiodом работников реперного отделения ядерной медицины, в качестве которого выбрано радиологическое отделение № 4 УЗ «Минский городской клинический онкологический центр». Дозы облучения рассчитывались по методике, основанной на результатах измерения концентраций активности ^{131}I в воздухе рабочих помещений. Для санитарок и палатных медсестер блока активных палат дозы облучения от ингаляционного поступления ^{131}I составляют от 1,7 до 3,2 мЗв/год, что говорит о необходимости контроля доз внутреннего облучения этой части персонала. В работе также приведены результаты измерения концентрации ^{131}I в воздухе на выходе из вентиляционной шахты реперного отделения, которые подтверждают, что при использовании радиоioda в ядерной медицине дозы облучения населения от газоаэрозольных выбросов ^{131}I в атмосферу пренебрежимо малы и не представляют опасности для населения.

Ключевые слова: ядерная медицина, доза внутреннего облучения, радиофармпрепарат, концентрация радиоioda.

Введение. Начиная со времени его открытия (1942 год), изотоп радиоактивного йода ^{131}I успешно используется для функциональной диагностики и лечения ряда заболеваний щитовидной железы.

В настоящее время радиойодтерапия является одним из наиболее распространенных методов лечения таких заболеваний, как тиреотоксикоз, рак щитовидной железы, аденома щитовидной железы.

В Беларуси радионуклидная терапия с использованием изотопов ^{131}I проводится радиологическими отделениями в учреждениях здравоохранения «Гомельский областной клинический онкологический диспансер» и «Минский городской клинический онкологический центр» (далее – МГКОЦ). Вводимая активность ^{131}I для взрослых пациентов обычно составляет:

- 37–240 МБк для диагностических целей;
- 200–800 МБк при лечении тиреотоксикоза и диффузного зоба;
- 1800–11100 МБк при абляции тканей щитовидной железы и лечении рака щитовидной железы.

Радиоизотоп ^{131}I является β -излучателем, имеет период полураспада 8,04 суток и может находиться в аэрозольной и молекулярной форме. Он имеет высокую миграционную способность, легко проникает в организм человека с воздухом, пищей и водой, а также поступает через кожу, раны и ожоги. Медицинские работники, выполняющие процедуры с радиофармпрепаратами (далее – РФП) на основе радиойода, подвергаются внешнему и внутреннему облучению, последнему, в основном, за счет ингаляционного поступления в организм йода, присутствующего в воздухе помещений при проведении работ с РФП.

Радиационная защита медицинских работников, попадающих при выполнении своих должностных обязанностей под воздействие ^{131}I , регулируется санитарными нормами и правилами, согласно требованиям которых эффективная доза внешнего облучения работника находится под строгим дозиметрическим контролем. Оценка дозы внутреннего облучения персонала ни в одном из отделений ядерной медицины Республики Беларусь не производится.

По литературным данным [1–4] годовая доза внутреннего облучения работника ядерной медицины от ингаляционного поступления ^{131}I может составлять до 3,05 мЗв, что является существенным вкладом в суммарную годовую эффективную дозу работника – основной показатель его радиационной защиты.

Население, находящееся вблизи отделений ядерной медицины, потенциально находится под воздействием ^{131}I , попадающего в атмосферу с газоаэрозольными выбросами из вентиляционных систем радиологических отделений, и это воздействие также требует изучения.

Учитывая изложенное, была поставлена задача – оценить опасность внутреннего облучения медицинских работников и населения от использования радиойода в отделениях ядерной медицины Республики Беларусь.

Цель работы – оценить эффективные дозы внутреннего облучения работников и населения при использовании ^{131}I в отделениях ядерной медицины Республики Беларусь.

Материалы и методы. Одним из наиболее простых способов оценки эффективных доз внутреннего облучения работников является расчет дозы на основе концентраций активности ^{131}I в воздухе рабочих помещений [1–4]. Измерения концентраций активности ^{131}I проводились в рабочих помещениях радиологического отделения № 4 МГКОЦ, которое для целей настоящего исследования было определено реперным отделением ядерной медицины. Отделение осуществляет лучевую диагностику и терапию с применением с РФП на основе ^{131}I , ежегодно в нем проходят лечение более 1,5 тысячи человек.

Для отбора проб воздуха с целью последующей оценки доз внутреннего облучения работников от ингаляционного поступления радиойода были выбраны рабочие помещения и время отбора, соответствующие наиболее высокой вероятности содержания ^{131}I в воздухе (таблица 1). Оценка радиационного воздействия выбросов ^{131}I на население проводилась на основе результатов измерения концентрации ^{131}I в пробах воздуха, отобранных на выходе из вентиляционных шахт отделения № 4 МГКОЦ.

Отбор проб воздуха осуществлялся сотрудниками государственного учреждения «Республиканский центр по гидрометеорологии, контролю радиоактивного загрязнения и мониторингу окружающей среды» (далее – Белгидромет) по методике СТБ 1058-2016 «Отбор проб атмосферного воздуха» на угольные и на аэрозольные фильтры, что позволило определять раздельно концентрации молекулярной и газоаэрозольной фракций радиойода. В соответствии с рекомендациями Международного агентства по атомной энергии (далее – МАГАТЭ) отбор проб производился на уровне зоны дыхания – на высоте 1,6 м от пола [1].

Измерения концентрации ^{131}I в пробе выполнялись в отделе спектрометрии Белгидромета на спектрометре энергии гамма-излучения ORTEC DCP GEM-S8530 с детектором из особо чистого германия

по методике МВИ.МН 3421-2010 «Методика выполнения измерений объемной и удельной активности гамма-излучающих радионуклидов на гамма-спектрометрах с полупроводниковыми детекторами».

Расчет дозы облучения проводился с использованием модели дыхательных путей человека в соответствии с рекомендациями публикации 66 Международной комиссии по радиационной защите [5]. Параметры, используемые при расчетах, представлены в таблице 2.

Для расчетов использовались максимальные значения концентраций ^{131}I в воздухе, измеренные на рабочем месте работника. Время работы персонала в условиях возможного облучения радиойодом по ингаляционному пути рассчитывалось на основе опроса работников и графика раздачи РФП в отделении. Процедурная медсестра, ответственная за раздачу капсул РФП, готовится к процедуре и раздает капсулы с радиойодным препаратом два раза в неделю, суммарно это занимает от 140 до 200 минут в зависимости от количества пациентов. Учитывая, что раздача препарата происходит 2 раза в неделю, медсестра находится в процедурной в присутствии РФП в среднем 340 минут в неделю или приблизительно 17 000 минут в год (~ 283 часа). Палатная медсестра работает по графику «сутки через трое», т. е. 48 часов в неделю, из которых около 40 % времени находится в активных палатах (960 часов в год), 10 % – в коридоре блока активных палат (далее – БАП) или примыкающих к нему помещениях (480 часов в год).

Санитарки осуществляют уборку и дезактивацию 10 активных палат два раза в день. Одноразовая уборка занимает в среднем 4 часа, к которым добавляется время на уборку коридора БАП и на оказание помощи пациенту. Суммарное время работы санитарки в активных палатах, включая санузел, было принято равным 24 часа в неделю и 10 часов в коридоре БАП. Частота дыхания во время работы в соответствии с методикой составляет 0,39 м³/час.

Результаты и обсуждение. Результаты измерений концентрации радиойода в разных точках отделения ядерной медицины (таблица 1) подтверждают, что в воздухе активных палат, а также в воздухе процедурной для раздачи РФП, коридоре БАП и на посту медицинской сестры БАП при раздаче пациентам капсул с радиойодом присутствует радиоактивный йод, около 99 % которого находится в молекулярной форме. Наиболее высокие концентрации ^{131}I характерны для санузлов активных палат. Во время процедуры раздачи РФП значимые концентрации ^{131}I зафиксированы в воздухе процедурной и коридоре БАП, а концентрации ^{131}I в пробах воздуха, отобранных на посту медицинской сестры, не превышали 4 Бк/м³.

Таблица 1 – Результаты измерения концентрации ^{131}I в воздухе рабочих помещений

Место и время отбора проб	Дата отбора пробы	Суммарная активность РФП, вводимого пациентам, ГБк	Концентрация ^{131}I в пробе воздуха, Бк/м ³	
			в молекулярной форме	в аэрозольной форме
Палата пребывания пациента (активная палата) по истечении 1-х суток после приема пациентом РФП	14.09.2022	7,72	356 ± 49*	13,9 ± 2,1*
	26.07.2023	5,13	401 ± 52*	14,1 ± 2,1*
	02.08.2023	6,14	396 ± 51*	12,7 ± 1,9*
Санузел, примыкающий к активной палате, по истечении 1-х суток после приема пациентом РФП	14.09.2022	7,72	598 ± 82*	5,7 ± 1,0*
	26.07.2023	5,13	564 ± 73*	6,8 ± 1,1*
	02.08.2023	6,14	621 ± 81*	6,2 ± 1,0*
Процедурная для раздачи РФП, во время раздачи капсул с ^{131}I	28.02.2023	52,13 (15 пациентов)	35,0 ± 4,7*	< 0,1
	25.07.2023	60,80 (17 пациентов)	41,0 ± 5,3*	< 0,1
	21.08.2023	15,55 (4 пациента)	13,0 ± 1,7*	< 0,1
Коридор БАП, после раздачи пациентам капсул с ^{131}I и возвращения всех пациентов в свои палаты	28.02.2023	52,13 (15 пациентов)	40,0 ± 5,4*	< 0,1
	21.08.2023	15,55 (4 пациента)	14,3 ± 1,8*	< 0,1
Пост медицинской сестры БАП, после раздачи пациентам капсул с ^{131}I и возвращения всех пациентов в свои палаты	28.02.2023	52,13 (15 пациентов)	2,6 ± 0,4*	< 0,1
	25.07.2023	60,80 (17 пациентов)	3,7 ± 0,5*	< 0,1

* расширенная неопределенность p = 95 % (при коэффициенте охвата k = 2).

На основании измеренных концентраций ^{131}I расчетным путем определены эффективные дозы облучения персонала, полученные за счет ингаляционного поступления радиоiodа. В расчетах использовались максимальные значения концентрации ^{131}I и временные параметры, приведенные в таблице 2.

Таблица 2 – Годовые эффективные дозы внутреннего облучения персонала реперного отделения ядерной медицины

Персонал	Рабочее место	Средняя концентрация ^{131}I на рабочем месте, Бк/м ³		Время работы в режиме возможного ингаляционного поступления, час		Эффективная доза от поступления ^{131}I , мЗв/год	
		молекул. форма	аэрозол. форма	в неделю	в год	молекул. форма	аэрозол. форма
Процедурная медсестра	Процедурная для раздачи РФП	41,0 ± 5,3*	< 0,1	5,6	283	0,05	< 0,1 × 10 ⁻⁴
	Коридор БАП	40,0 ± 5,4	< 0,1	2	100	0,02	< 0,4 × 10 ⁻⁵
Постовая медсестра	Пост медсестры	3,7 ± 0,5*	< 0,1	14	70	0,001	< 0,3 × 10 ⁻⁵
Палатная медсестра	БАП	401 ± 52*	14,1 ± 2,1*	20	1000	1,7	< 0,06
	Коридор БАП	40,0 ± 5,4	< 0,1	5	250	0,04	< 0,1 × 10 ⁻⁴
Санитарка	БАП	621 ± 81*	6,8 ± 1,1*	24	1200	3,2	< 0,06
	Коридор БАП	40,0 ± 5,4*	< 0,1	10	500	0,09	< 0,2 × 10 ⁻⁴

* расширенная неопределенность $\rho = 95\%$ (при коэффициенте охвата $k = 2$).

Дозы облучения персонала, обусловленные ингаляционным поступлением аэрозольного ^{131}I , не превышают 0,06 мЗв/год, и при анализе данных эти дозы можно не учитывать. Годовые эффективные дозы, полученные медицинским персоналом при вдыхании молекулярного ^{131}I , варьировались от незначительных у постовой медсестры (0,001 мЗв) до 3,2 мЗв у санитарки.

Из анализа данных также следует, что концентрация ^{131}I в воздухе процедурной и коридора БАП существенно зависит от количества пациентов и суммарной активности капсул с ^{131}I , раздаваемых пациентам: при увеличении числа пациентов с 4 до 15 человек концентрация ^{131}I в воздухе возрастает более чем в 2,5 раза.

Полученные результаты находятся в хорошем соответствии с результатами измерения концентраций ^{131}I в воздухе рабочих мест отделения ядерной медицины, опубликованными в работе [4]: от 3 до 492 Бк/м³ ^{131}I в зависимости от места и времени отбора пробы воздуха. Расчетные дозы внутреннего облучения работников приведены в диапазонах 0,01–1,7 мЗв/год (медсестры) и 0,09–3,2 мЗв/год (санитарки и технический персонал).

Необходимо отметить, что расчеты доз облучения в данной работе могли привести к получению завышенных значений доз облучения, поскольку для расчетов использовались наиболее высокие концентрации ^{131}I , а время работы персонала в режиме ингаляционного облучения принималось с допущениями в сторону завышения (консервативный подход).

Для оценки воздействия газоаэрозольных выбросов отделений йодной терапии на население были проведены измерения концентрации ^{131}I в пробах воздуха, отобранных на выходе из вентиляционных шахт отделения № 4 МГКОЦ. Концентрация ^{131}I в этих пробах оказалась меньше детектируемой величины, в связи с этим расчет дозы населения от выбросов ^{131}I из отделения выполнен для минимально детектируемой величины и других условий, выбранных на основе консервативного подхода (таблица 3). В качестве репрезентативного лица выбрана возрастная группа «взрослые, старше 17 лет», условно проживающая в непосредственной близости (500 м) от вентиляционной трубы, которая с большой вероятностью получает от выбросов наиболее высокую дозу облучения.

Значение годовой эффективной дозы, рассчитанное для условий, указанных в таблице 3, составляет $2,1 \times 10^{-3}$ мЗв/год, что на 2 порядка ниже величины граничной дозы для населения от выбросов радиационных объектов, рекомендуемой МАГАТЭ (0,3 мЗв/год).

Таблица 3 – Параметры расчета доз внутреннего облучения населения от выбросов ^{131}I реперного отделения ядерной медицины

Параметр для расчета	Значение	Примечание
Концентрация ^{131}I в выбросе	0,1 Бк/м ³	Является минимально детектируемой величиной
Годовой выброс	2 000 Бк	Рассчитан на основе минимально детектируемой величины и времени на прокачку воздуха при отборе проб
Объем вдыхаемого воздуха в единицу времени	0,925 м ³ /ч	Установлены для возрастной группы «взрослые, старше 17 лет»
Коэффициент дозового преобразования при ингаляции для ^{131}I	$7,4 \times 10^{-9}$	
Среднегодовой метеорологический фактор разбавления	$7,7 \times 10^{-6}$ с/м ³	Рассчитан для метеоусловий места расположения отделения № 4 МГКОЦ

Заключение. В результате проведенных исследований установлено, что в воздухе на рабочих местах персонала отделений ядерной медицины, применяющего для лечения пациентов РФП с радиоактивным йодом, может присутствовать радиоактивный ^{131}I , который является причиной внутреннего облучения работников по ингаляционному пути в дозах от 0,01 до 3,2 мЗв/год.

В Республике Беларусь эти дозы не контролируются, несмотря на то, что в соответствии с концепцией радиационной защиты, дозы внутреннего облучения являются частью суммарной эффективной дозы работника [3]. Таким образом, годовые эффективные дозы профессионального облучения работников отделений ядерной медицины могут оказаться недоучтенными. Вопрос давно является актуальным, и его решение является необходимым условием эффективного функционирования системы радиационной защиты медицинских работников от профессионального облучения.

Исследование подтвердило, что доза облучения населения от радиационного воздействия выбросов ^{131}I из отделений ядерной медицины в атмосферу является пренебрежимо малой величиной, на два порядка ниже граничной дозы облучения населения, рекомендованной МАГАТЭ. В соответствии с национальными и международными регулятивными документами радиационный мониторинг объекта в этом случае не требуется.

Сведения о НИР. НИР «Разработать методы оценки радиационной безопасности для населения выбросов и сбросов радиоактивных веществ и эффективности радиационного контроля доз облучения персонала при эксплуатации радиационных объектов» подпрограммы «Безопасность среды обитания человека» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», 2021–2025 гг., регистрационный номер 20220374.

Литература

1. Радиационная защита при профессиональном облучении : общее рук. по безопасности № GSG-7. – Вена : МАГАТЭ, 2021. – 404 с. – (Нормы безопасности МАГАТЭ).
2. Measurement of ^{131}I activity in thyroid of nuclear medical staff and internal dose assessment in a Polish nuclear medical hospital / K. Brudecki, A. Kowalska, P. Zagrodzki [et al.] // Radiation and Environmental Biophysics. – 2017. – Vol. 56, № 1. – P. 19–26.
3. Estimating the internal dose for ^{131}I production workers from air sampling method / T. X. Hoi, H. T. Phuong, N. V. Hung // Radiation Protection Dosimetry. – 2017. – Vol. 175, № 1. – P. 58–64.
4. Measurement of ^{131}I activity in air indoor Polish nuclear medical hospital as a tool for an internal dose assessment / K. Brudecki, A. Szczodry, T. Mróz [et al.] // Radiation and Environmental Biophysics. – 2018. – Vol. 57, № 1. – P. 77–82.
5. Human respiratory tract model for radiological protection : ICRP publication 66 // Annals of the ICRP. – 1994. – Vol. 24, № 1–3. – P. 1–482.

Rozdylouskaya L. F., Nikalayenka A. U., Huseinava D. I.

INTERNAL EXPOSURE DOSES OF MEDICAL WORKERS AND THE PUBLIC WHEN USING ^{131}I IN NUCLEAR MEDICINE

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

Nuclear medicine workers, who perform procedures with radiopharmaceutical including radioiodine are exposed to external and internal radiation, the latter mainly through inhalation of radioiodine, present in air when working with RFP. In the Republic of Belarus strict control is provided only for external

exposure doses to medical workers, and internal exposure doses are not under control. The paper presents the results of calculation of annual effective doses of internal exposure by radioiodine to workers of radiological department of Minsk City Clinical Cancer Center which is selected to be a reference nuclear medicine department. The exposure doses were estimated using a method based on the measurement of ^{131}I activity in the air inside the work areas. For medical orderlies and nurses of the block of active wards the internal exposure doses from inhalation intake of ^{131}I range from 1.7 to 3.2 mSv/year, which indicates the necessity to control doses of internal exposure for this part of personnel. The paper also presents the results of measuring concentration of ^{131}I in air at the outlet of the ventilation shaft of the department. They confirm that exposure doses to population due to gasaerosol emissions of ^{131}I from nuclear medicine departments are negligible and are not a danger to the public.

Keywords: nuclear medicine, internal exposure dose, radiopharmaceutical, radioiodine concentration.

References

1. Radiation protection for occupational exposure: Obshchee ruk. po bezopasnosti № GSG-7. Vienna: IAEA; 2021. (in Russian)
2. Brudecki K., Kowalska A., Zagrodzki P. et al. Measurement of ^{131}I activity in thyroid of nuclear medical staff and internal dose assessment in a Polish nuclear medical hospital. Radiat Environ Biophys. 2017;56(1): 19–26.
3. Hoi T. X., Phuong H. T., Hung N. V. Estimating the internal dose for ^{131}I production workers from air sampling method. Radiat Prot Dosimetry. 2017; 175(1): 58–64.
4. Brudecki K., Szczodry A., Mróz T. Measurement of ^{131}I activity in air indoor Polish nuclear medical hospital as a tool for an internal dose assessment. Radiat Environ Biophys. 2018; 57(1): 77–82.
5. Human respiratory tract model for radiological protection: ICRP publication 66. Ann of the ICRP. 1994; 24(1–3): 1–482.

e-mail для переписки: nikolaenko67@gmail.com

Поступила 08.10.2024

УДК [614.876:546.296]:613.5(476.7)

Сасноўскі А. В., Авецісаў А. Р., Лукашэвіч Ж. А.¹, Васілеўскі Л. Л.¹, Маджаро А. А.², Сасноўская К. А.³

ДОЗЫ АПРАМЕНЬВАННЯ ЗА КОШТ РАДОНУ Ў ЖЫЛЫХ ПАМЯШКАННЯХ СТОЛІНА І СТОЛІНСКАГА РАЁНА

Установа адукацыі «Беларускі дзяржаўны медыцынскі ўніверсітэт»,
г. Мінск, Рэспубліка Беларусь

¹ Дзяржаўная навуковая ўстанова «Аб'яднаны інстытут энергетычных і ядзерных даследаванняў –
Сосны» Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі,

в. Прылессе, Рэспубліка Беларусь

² Дзяржаўная ўстанова «Столінскі раённы цэнтр гігіены і эпідэміялогіі», г. Столін, Рэспубліка Беларусь

³ Дзяржаўная ўстанова «Мінскі гарадскі цэнтр гігіены і эпідэміялогіі», г. Мінск, Рэспубліка Беларусь

Анотацыя. У артыкуле змяшчаецца інфармацыя аб эквівалентнай аб'ёмнай актыўнасці радону ў паветры жылых памяшканняў Століна і некаторых населеных пунктах Столінскага раёна, у тым ліку Давыд-Гарадка. Разлічаны індывідуальныя дозы, створаныя радонам, які знаходзіцца ў паветры даследаваных жылых гарадоў і вёсак. Прааналізаваны фактары, якія маглі паўплываць на велічыню эквівалентнай аб'ёмнай актыўнасці радону. Зроблена карціраванне паводле атрыманых дадзеных аб велічыні радыяцыйных доз.

Ключавыя словы: доза апраменьвання, радон.

Уводзіны. Радон – гэта прыродны радыеактыўны глебавы газ, які ўтвараецца ў працэсе радыеактыўнага распаду ізатопаў радыю ў глебах і горных пародах па ўсім свеце. Радон сам па сабе не з'яўляецца істотнай крыніцай пагрозы здароўю, але яго даччыныя прадукты распаду (далей – ДПР) – гэта цвёрдыя радыеактыўныя часціцы, якія могуць замацоўвацца на любой паверхні, напрыклад, на пылеці на эпідэміі лёгкіх. Вынікам гэтага з'яўляецца тое, што іх α -выпраменьванне сур'ёзна пашкоджвае ДНК,

што патэнцыйна можа прыводзіць да раку лёгкіх. Радон з'яўляецца асноўнай прычынай развіцця раку лёгкіх у людзей, якія не паляць, і другой па распаўсюджанасці прычынай у курцоў. Рызыка развіцця раку лёгкіх на працягу жыцця мае лінейную беспарогавую залежнасць ад уздзеяння радону. Агулам пажыццёвая анкалагічная рызыка залежыць ад эквівалентнай аб'ёмнай актыўнасці радону, працягласці ўздзеяння і звычак курэння. Так, напрыклад, уздзеянне радону істотна павялічвае рызыку развіцця раку лёгкіх у курцоў [1].

Радон не мае паху, колеру і смаку, што ўскладняе яго выяўленне. У прыродзе радон пранікае праз невялікія прамежкі ў глебе, дасягаючы паверхні і атмасферы. Радон трапляе ў дамы праз расколіны ў падмурках, вадасцёкавыя трубы і выгравныя ямы. Радон таксама можа трапляць у дамы з вадаправоднай вадой праз краны і душавыя кабіны ў выніку яго растварэння ў калодзежнай вадзе [1].

Паводле рэкамендацыі Сусветнай арганізацыі аховы здароўя максімальна дапушчальнае ўздзеянне радону павінна складаць не больш за 100 Бк/м³. У Рэспубліцы Беларусь узроўні радону ў паветры жылых памяшканняў рэгламентуюцца Гігіенічным нарматывам «Крытэрыі ацэнкі радыяцыйнага ўздзеяння». Паводле гэтага нарматыву рэферэнтны ўзровень дозы апраменьвання насельніцтва Rn-222 і яго ДПР усталёўваецца ў залежнасці ад сацыяльных і эканамічных фактараў. Гадавая эфектыўная доза апраменьвання насельніцтва Rn-222 пры знаходжанні ў жылых і іншых будынках і памяшканнях не павінна перавышаць 10 мЗв/год [2]. Гэтая доза разлічана з умовай, што каэфіцыент раўнавагі для Rn-222 складае 0,4, гадавы ўзровень запаўняльнасці складае 7000 гадзін, а сярэдняя гадавая эквівалентная аб'ёмная актыўнасць радону ўзятая за 300 Бк/м³, што істотна перабольшвае міжнародныя рэкамендацыі.

Мэта працы – даследаванне і аналіз доз, якія фарміруюцца на насельніцтва Століна і некаторых населеных пунктаў Столінскага раёна за кошт радону ў паветры жылых памяшканняў.

Матэрыялы і метады. Для даследавання былі абраныя 2 населеныя пункты Брэсцкай вобласці: Столін і Давыд-Гарадок, а таксама некаторыя вёскі каля іх. Агулам было даследавана 100 жылых дамоў, зроблена 200 вымярэнняў. У Століне прымалі ўдзел 75 жылых дамоў, а ў Давыд-Гарадке – 20 дамоў, астатнія вымярэнні праводзіліся ў навакольных вёсках. Разам з супрацоўнікамі дзяржаўнай установы «Столінскі раённы цэнтр гігіены і эпідэміялогіі» быў зроблены выбар жылых памяшканняў для правядзення вымяральных даследаванняў. Гэты выбар быў праведзены з улікам наступных фактараў: тып жыллага памяшкання, вышыня падполля, тып ацяплення і водазабеспячэння, матэрыялы, якія выкарыстоўваліся для будаўніцтва дома.

Паводле дзеючых нарматыўна-прававых актаў [3, 4] наша даследаванне праводзілася на працягу 2 месяцаў (студзень і люты 2024 года). Былі абраны статыстычна найбольш халодныя месяцы года з-за таго, што менавіта зімою канцэнтрацыя радону ў паветры жылых памяшканняў становіцца максімальнай, бо зніжаецца кратнасць і якасць вентыляцыі пакояў. Акрамя гэтага, працягласць знаходжання чалавека ў памяшканні павялічваецца ў халодны перыяд года, што павялічвае экспазіцыю ўздзеяння даследаванага фактара. Такім чынам, мы спрабуем утварыць найбольш песімістычны сцэнарый уздзеяння радону ў паветры жылых памяшканняў на здароўе насельніцтва.

З пункта гледжання інструментальнага складніка мы выкарыстоўвалі трэкавы метады даследавання радону ў паветры жылых памяшканняў. З дапамогай інтэгральных трэкавых радыёметраў радону праводзіліся вымярэнні інтэгральных сярэднеўзважаных значэнняў аб'ёмнай актыўнасці радону. Пры гэтым мы рабілі рэгістрацыю і падлік трэкаў, якія пакідаюць альфа-часціцы, што ўтвараюцца пры распадзе радону і яго ДПР. Павебра з радонам трапляе ў камеру радыёметра, а фільтр перашкаджае руху вільгаці і аэразоляў. З-за таго што дыфузія павебра праз камеру радыёметра складае некалькі гадзін (у залежнасці ад знешніх умоў), выключаецца ўплыў радону ($T_{1/2} = 55,6$ с) на вынікі вымярэння. Калі альфа-часціцы праходзяць праз плёнку дэтэктара інтэгральнага трэкавага радыёметра радону, яны пакідаюць трэкі пашкоджанняў. Пасля 2 месяцаў экспанавання ў лабараторыі праводзіцца хімічная апрацоўка дэтэктараў дзеля таго, каб падлічыць колькасць трэкаў, утвораных альфа-часціцамі. Далей выконваецца матэматычная апрацоўка з мэтай пераліку колькасці трэкаў у сярэдняю аб'ёмную актыўнасць радону ў паветры жылых памяшканняў. Для праверкі эфектыўнасці праведзенага эксперыменту і падліку памылкі праводзіцца экспанаванне партыі інтэгральных трэкавых радыёметраў радону ў паветры з вядомай канцэнтрацыяй радону. У выніку мы атрымалі фізічную велічыню, якая з'яўляецца сярэднеўзважаным значэннем аб'ёмнай актыўнасці радону ў паветры жылых памяшканняў (Бк × м⁻³) за час экспазіцыі (2 месяцы).

Пры правядзенні вымярэнняў выкарыстоўвалі наступныя матэрыялы і рэактывы: інтэгральны трэкавы радыёметр радону з дэтэктарам на аснове плёнкі «Kodak LR-115», Type 2; прыбор для тэрчэння трэкавых дэтэктараў – тэрматат «ТРАЛ-1»; прыбор для аўтаматычнага падліку трэкаў «Аист-2В»; стужка лаўсанавая тыпу ПЭТФ 0А12; гідраксід натрыю NaOH, ГОСТ 4328, 6N раствор; вада дыстыляваная, ГОСТ 6709.

Вымярэнне, лабараторны эксперымент, кантроль памылак былі выкананы паводле існуючым нарматыўна-прававым актам у акрэдытаванай лабараторыі эксперыментальных ядзерна-фізічных даследаванняў і экспертных аналізаў радыеактыўных матэрыялаў на базе Дзяржаўнай навуковай установы «Аб'яднаны інстытут энергетычных і ядзерных даследаванняў – Сосны» Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі.

Вынікі і іх абмярканне. Намі былі разлічаны дозы апраменьвання за кошт радону ў паветры жылых памяшканняў на насельніцтва Століна, Давыд-Гарадка і іншых населеных пунктаў у адпаведнасці з Інструкцыяй [5] і Міжнароднымі рэкамендацыямі [6]. Для разлікаў мы карысталіся наступнай формулай (1):

$$E(Rn) = D \times t \times A(Rn), \quad (1)$$

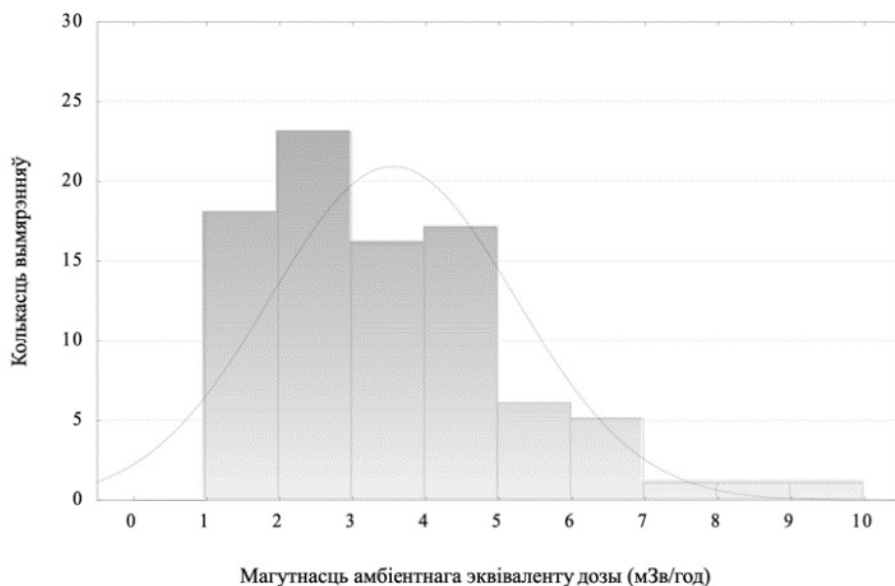
дзе $E(Rn)$ – магутнасць амбіентнага эквіваленту дозы, мЗв/год;

D – дозы каэфіцыент $9,0 \times 10^{-6}$, мЗв/гадзіну \times Бк/м³;

t – сярэдні час знаходжання чалавека ў жылым памяшканні цягам года, які складае 7000 гадзін;

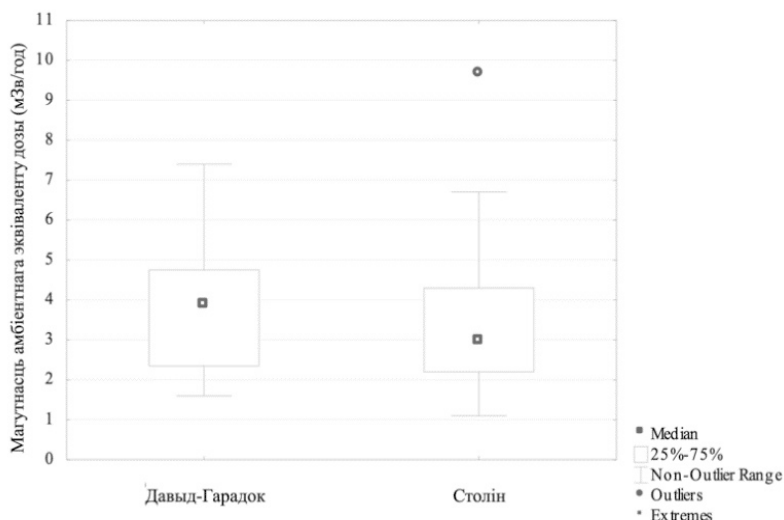
$A(Rn)$ – эквівалентная раўнаважная аб'ёмная актыўнасць радону ў паветры жылых памяшканняў, Бк/м³.

У выніку магутнасць амбіентнага эквіваленту дозы для насельніцтва даследаваных населеных пунктаў за кошт радону ў паветры жылых памяшканняў змянялася ў дыяпазоне ад 1,1 да 9,7 мЗв/год з размеркаваннем, якое адрозніваецца ад нармальнага (Kolmogorov – Smirnov, Lilliefors; $p < 0,05$) (малюнак 1).



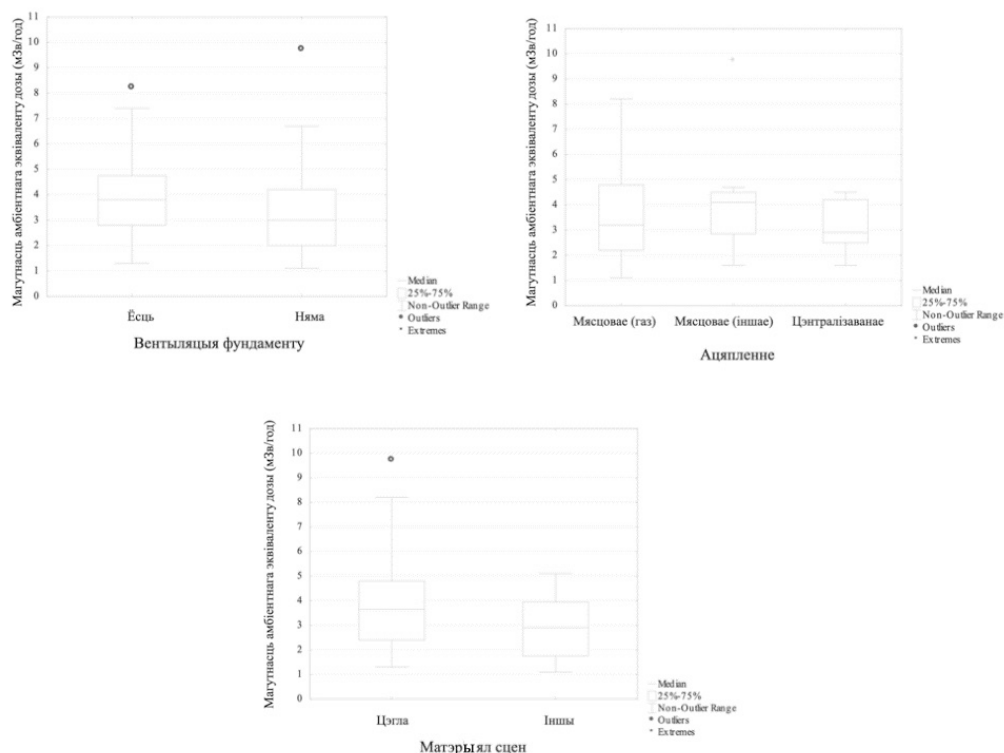
Малюнак 1 – Размеркаванне доз апраменьвання на насельніцтва за кошт радону ў паветры жылых памяшканняў Століна і Давыд-Гарадка

Пасля пазбаўлення ад выкідаў і фарміравання канчатковай выбаркі намі быў праведзены поўны непараметрычны статыстычны аналіз. Сярэдняе значэнне магутнасці амбіентнага эквіваленту доз складала 3,55 мЗв/год, медыянае – 3,3 мЗв/год. Статыстычная апрацоўка вынікаў прадэманстравала адсутнасць розніцы ў значэннях магутнасці амбіентнага эквіваленту доз, якія сфарміраваліся на насельніцтва Століна і Давыд-Гарадка ($p < 0,05$) (малюнак 2).



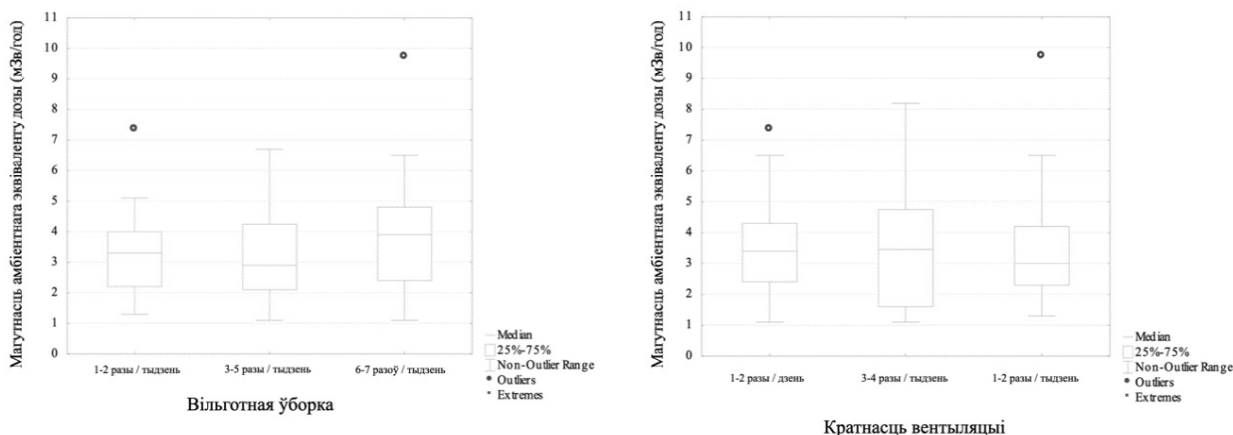
Малюнак 2 – Параўнанне значэнняў магутнасці амбіентнага эквіваленту доз, якія сфарміраваліся на насельніцтва Століна і Давыд-Гарадка

Наступным этапам стаў пошук адрозненняў паміж значэннямі амбіентнага эквіваленту доз, атрыманых пры вымярэннях у розных тыпах жылых дамоў. Мы паспрабавалі знайсці адрозненні з пункта гледжання асаблівасцей архітэктурна-планіровачных рашэнняў і тэхналагічных характарыстык сістэм ацяплення і водазабеспячэння. У выніку былі атрыманы супярэчлівыя дадзеныя. Былі знойдзены некаторыя адрозненні паміж даследаванымі групамі, аднак у нас не атрымалася пацвердзіць гэтыя статыстычныя. Напрыклад, у жылых дамах, пабудаваных з цэгля, магутнасць дозы была некалькі вышэй, чым аналагічныя значэнні ў драўляных дамах. Гэтак жа, у дамах з дэцэнтралізаванай сістэмай ацяплення і водазабеспячэння магутнасць амбіентнага эквіваленту дозы, якая фарміруецца радонам, была некалькі вышэй, чым у дамах з аналагічнымі цэнтралізаванымі сістэмамі. Акрамя таго, ёсць некаторыя адрозненні ў дамах з натуральнымі вентыляцыйнымі адтулінамі і без іх, але ўсе гэтыя параўнанні не знайшлі статыстычнага сцвярджэння (малюнак 3).



Малюнак 3 – Параўнанне значэнняў магутнасці амбіентнага эквіваленту доз у дамах з рознымі архітэктурнымі рашэннямі

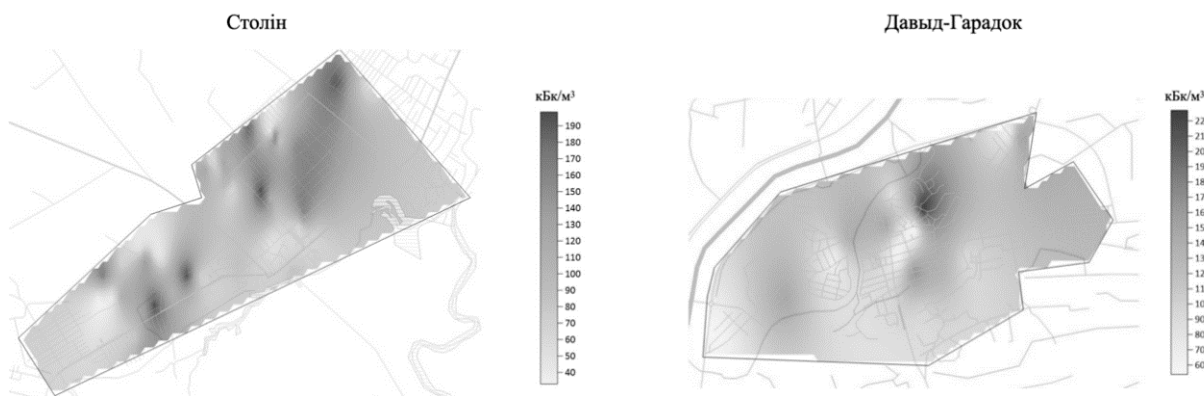
Такія актыўныя дзеянні як кратнасць вентыляцыі або вільготнай уборкі гэтак жа не адыгралі істотнай ролі ў фарміраванні доз на насельніцтва гарадоў, якія мы даследуем (малюнак 4).



Малюнак 4 – Параўнанне значэнняў магутнасці амбiентнага экiваленту доз у дамах з рознай кратнасцю ўборкі і вентыляцыі

Гэтак сама не было знойдзена статыстычна значнай карэляцыі (Spearman Rank Order Correlations; $p < 0,05$) паміж вышынёй падмурка і магутнасцю амбiентнага экiваленту дозы. Такім чынам, калі абагуліць, не атрымалі ніводнага сведчання, што ёсць фактары, якія істотна ўплываюць на велічыню магутнасці амбiентнага экiваленту дозы, якая фарміруецца за кошт радону ў паветры жылых памяшканняў. Для карэктнай ацэнкі небяспекі і рызыкаў неабходна правядзенне прамых вымярэнняў.

Апошнім этапам нашай працы стала стварэнне карт, якія адлюстроўваюць размеркаванне велічынь экiвалентнай аб'ёмнай актыўнасці радону ў паветры жылых памяшканняў у Століне і Давыд-Гарадке (малюнак 5).



Малюнак 5 – Карта велічынь экiвалентнай аб'ёмнай актыўнасці радону ў паветры жылых памяшканняў Століна і Давыд-Гарадка

Заклучэнне. Магутнасць амбiентнага экiваленту дозы для насельніцтва Століна і Давыд-Гарадка за кошт радону ў паветры жылых памяшканняў змянялася ў дыяпазоне ад 1,1 да 9,7 мЗв/год. Не было ніводнага значэння, якое б перабольшвала рэферэнтныя ўзроўні. Сярэдняе значэнне магутнасці амбiентнага экiваленту доз складала 3,55 мЗв/год, медыянае – 3,3 мЗв/год. Статыстычная апрацоўка атрыманых вынікаў прадэманстравала адсутнасць розніцы ў значэннях магутнасці амбiентнага экiваленту доз, якія сфарміраваліся на насельніцтва Століна і Давыд-Гарадка. Няма фактараў, якія істотна ўплываюць на велічыню магутнасці амбiентнага экiваленту дозы, што фарміруецца за кошт радону ў паветры жылых памяшканняў. Для карэктнай ацэнкі небяспекі і рызыкаў неабходна правядзенне прамых вымярэнняў.

Літаратура

1. Hopkins, J. Radon gas / J. Hopkins // Canadian Family Physician Médecin de Famille Canadie. – 2018. – Vol. 64, № 9. – P. 634.
2. О Государственной программе по преодолению последствий катастрофы на Чернобыльской АЭС на 2021–2025 годы : постановление Совета министров Респ. Беларусь от 22 марта 2021 г. № 159 // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь. – URL: <https://pravo.by/document/?guid=3871&p0=C22100159> (дата обращения: 07.10.2024).
3. Методика определения объемной активности радона в воздухе жилых и производственных помещений с использованием интегральных радонометров на основе твердотельных трековых детекторов альфа-частиц : МВИ. Мн. 1808–2002. – Минск, 2002. – 18 с.
4. Проведение радиационно-гигиенического обследования жилых и общественных зданий : метод. указания МУК РБ № 11-8-6-2002 / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Респ. центр гигиены и эпидемиологии. – Минск, 2002. – 22 с.
5. Оценка индивидуальных эффективных доз облучения населения за счет природных источников ионизирующего излучения : инструкция 2.6.1.10–12–22–2006 : утв. постановлением М-ва здравоохранения Респ. Беларусь 17 окт. 2006 г. № 123 // Радиационная гигиена : сб. норматив. док. / Респ. центр гигиены, эпидемиологии и обществ. здоровья ; сост. З. Т. Рызгунская. – Минск, 2008. – Вып. 1. – С. 66–81.
6. Effects of ionizing radiation. UNSCEAR 2006 Report / United nations scientific committee on the effects of atomic radiation. – New York : United Nations, 2009. – Vol. 2 : Scientific annexes C, D and E. – URL: https://www.unscear.org/unscear/en/publications/2006_2.html (date of access: 07.10.2024).

*Sasnouski A. V., Avezisau A. R., Lukashevich J. A.¹,
Vasileuski L. L.¹, Majaro A. A.², Sasnouskaya K. A.³*

RADIATION DOSES DUE TO RADON IN RESIDENTIAL AREAS OF STOLIN AND STOLINSKY DISTRICT

Education institution «Belarusian State Medical University», Minsk, Belarus

¹ State Scientific Institution «Joint Institute for Power and Nuclear Research – Sosny» of the National Academy of Sciences of Belarus, Prilesye district, Belarus

² State Institution «Stolin District Center of Hygiene and Epidemiology», Stolin, Belarus

³ State Institution «Minsk City Center of Hygiene and Epidemiology», Minsk, Belarus

The article contains information about the equivalent of indoor residential radon of Stolín and some settlements of Stolinsky district, including David-Gorodok. The individual doses created by indoor residential radon in cities and villages studied were calculated. The factors that could affect the value of the equivalent activity of radon were analyzed. Mapping was done according to the data obtained on the magnitude of radiation doses.

Keywords: radiation dose, radon.

References

1. Hopkins J. Radon gas. *Can Fam Physician*. 2018; 64(9): 634.
2. National legal internet portal of the Republic of Belarus: Postanovlenie Soveta ministrov Resp. Belarus' ot 22 marta 2021 g. № 159. Available at: <https://pravo.by/document/?guid=3871&p0=C22100159> (accessed 7 October 2024). (in Russian)
3. Measurement procedure 1808–2002. Method for determining the volumetric activity of radon in the air of residential and industrial premises using integral radonimeters based on solid-state track detectors of alpha particles. Minsk; 2002. (in Russian)
4. Conducting radiation-hygienic inspection of residential and public buildings. metod. ukazaniya MUK RB № 11-8-6-2002 / M-vo zdravoochraneniya Resp. Belarus, Resp. tsentr higienyi i epidemiologii. Minsk; 2002. (in Russian)
5. Assessment of individual effective doses of radiation to the population due to natural sources of ionizing radiation: Instruction 2.6.1.10-12-22-2006: Utv. postanovleniem M-va zdravoochraneniya Resp. Belarus' 17 okt. 2006 g. № 123. In: Radiacionnaya gigiena: Sb. normativ. dok. Minsk; 2008: 66–81. (in Russian)
6. Effects of ionizing radiation. UNSCEAR 2006 Report. New York; 2009. Vol. 2: Scientific annexes C, D and E. Available at: https://www.unscear.org/unscear/en/publications/2006_2.html (accessed 7 October 2024).

e-mail для перапіскі: sosnovskiy_franc@mail.ru

Поступила 07.10.2024

Раздел 3

ГИГИЕНА ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ

УДК 613.954

Грекова Н. А., Карпович Н. В., Полянская Ю. Н., Шепелев Д. С.¹, Итпаева-Людчик С. Л.

ПАРАМЕТРЫ ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ДЕТЕЙ ДОШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

¹ Учреждение здравоохранения «6-я городская клиническая больница», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. В статье представлены результаты оценки уровня и гармоничности физического развития 111 дошкольников, анализ показателей психофизиологического состояния и результатов анкетирования родителей по наличию субъективных жалоб, касающихся состояния здоровья детей. Выполнен сравнительный анализ показателей функционального состояния детей, отличающихся по уровню и гармоничности физического развития. Среди детей с дисгармоничным физическим развитием зафиксирована более высокая распространенность нарушений осанки и субъективных жалоб астенического характера, снижение показателей психофизиологического состояния. Полученные результаты свидетельствуют о том, что показатель гармоничности физического развития можно рассматривать как один из индикаторов благополучия дошкольника.

Ключевые слова: дети дошкольного возраста, физическое развитие.

Введение. Дошкольный возраст – время формирования основы здоровья будущего взрослого человека. Функциональные отклонения, возникающие в работе различных органов и систем в данном возрастном периоде, зачастую прогрессируют в период школьного обучения и могут приводить к развитию более серьезных нарушений в состоянии здоровья подростков и взрослых, оказывая существенное влияние на выполнение социальных функций и качество жизни. Поэтому проблема поддержания и укрепления здоровья детей дошкольного возраста не теряет своей актуальности и является государственной задачей.

Детский возраст является периодом интенсивного роста и развития, характеризуется наиболее высокой чувствительностью организма к воздействию благоприятных и неблагоприятных условий окружающей среды.

Уровень физического развития является одним из важных критериев, характеризующих состояние здоровья ребенка, биологическим маркером, чувствительным к воздействию внешних и внутренних факторов, индикатором социально-гигиенического благополучия [1].

Анализ многолетней динамики свидетельствует о существенных изменениях, происходящих в физическом развитии детей и подростков. Большинство исследований указывают на направленность секулярных изменений в сторону увеличения размеров тела, при этом величина и темпы этих изменений имеют региональные различия. При оценке уровня физического развития детей в Республике Беларусь наблюдается смещение распределения показателей длины тела и индекса массы тела (далее – ИМТ) в сторону более высоких значений [2–6].

Изучение влияния таких изменений на состояние здоровья детей представляет актуальную задачу. Анализ взаимосвязей между показателями физического развития и функционального состояния организма ребенка необходим для выявления групп риска и разработки профилактических мероприятий.

Цель исследования – изучить функциональное состояние детей старшего дошкольного возраста, отличающихся по уровню и гармоничности физического развития.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 111 детей дошкольного возраста (53 мальчика и 58 девочек), воспитанники старших групп учреждений дошкольного образования г. Минска. Возраст детей на момент обследования составлял от 5 до 7 лет (средний возраст $(5,8 \pm 0,1)$ лет). Все материалы были собраны с соблюдением правил биоэтики, законными представителями дошкольников подписывалось информированное добровольное согласие на участие в исследовании, данные были деперсонифицированы.

Программа соматометрического исследования включала измерения длины и массы тела, расчет ИМТ. Выполнена оценка показателей длины тела и ИМТ для каждого обследованного дошкольника по методу z-scores в соответствии с едиными критериями ВОЗ (WHO Reference, 2007).

С целью изучения функционального состояния нервно-мышечной системы определялась максимальная мышечная сила ведущей руки, силовой индекс (отношение максимальной мышечной силы к массе тела), скорость простой зрительно-моторной реакции. Исследования выполнены с помощью аппаратно-программного комплекса «НС-ПсихоТест» (ООО «Нейрософт», Россия).

Диагностика нарушений осанки, функционального состояния костно-мышечной системы выполнена с участием врача-ортопеда. Функциональное состояние грудных мышц и мышц верхнего плечевого пояса оценивалось на основе анализа результатов мышечного тестирования по степени ограничения объема движений в плечевых суставах. Детям предлагалось сцепить пальцы кистей рук за спиной в замок (тест 1 – правая рука вверх, тест 2 – левая рука вверх). Оценка функционального состояния мышц спины проведена по результатам выполнения теста 3 (наклон туловища вперед при разогнутых коленях) [7].

Материалом для изучения распространенности субъективных жалоб на состояние здоровья детей послужили результаты опроса родителей дошкольников, проведенного с использованием специально разработанной анкеты.

Статистическая обработка полученных данных осуществлена с использованием пакета программ Statistica (StatSoft Inc., США). При оценке значимости различий между показателями независимых выборок использован t-критерий Стьюдента, различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. По результатам выполненного анализа данных установлено, что в диапазоне средних значений для пола и возраста находились показатели длины тела 56,8 % обследованных дошкольников (58,5 % мальчиков и 55,2 % девочек). Показатели длины тела 33,3 % обследованных были выше среднего (34,0 % мальчиков и 32,8 % девочек). Распространенность показателей длины тела ниже среднего была существенно меньше – всего 3,6 % (зафиксированы только среди девочек – 6,9 %). Существенные отклонения показателя длины тела по оценке z-scores, находящиеся за пределами двух стандартных отклонений отмечены у 6,3 % обследованных детей, при этом у 5,4 % наблюдалось отклонение в большую сторону (SDS более +2, что соответствует высокому росту), низкий рост (SDS < -2) – всего 0,9 % обследованных. Распределение дошкольников в соответствии с z-scores оценкой длины тела представлено в таблице 1.

Таблица 1 – Распределение дошкольников по результатам оценки длины тела, %

Пол	N (кол-во)	Низкий SDS < -2	Ниже среднего SDS от -1 до -2	Средний SDS от -1 до +1	Выше среднего SDS от +1 до +2	Высокий SDS > +2
Мальчики	53	0,0	0,0	58,5	34,0	7,5
Девочки	58	1,7	6,9	55,2	32,8	3,4
Всего	111	0,9	3,6	56,8	33,3	5,4

Для оценки влияния уровня физического развития в соответствии с оценкой длины тела на общее функциональное состояние организма дошкольники были разделены на две группы: группа 1 – значения показателей длины тела находились в пределах одного стандартного отклонения (63 человека), группа 2 – значения длины тела отличались от медианного по возрасту значения более чем на одно стандартное отклонение (48 человек).

Результаты функционального тестирования состояния грудных мышц и мышц плечевого пояса (тест 1, тест 2), задней группы мышц бедра и мышц голени (тест 3), ортопедического осмотра, психофизиологического тестирования дошкольников с разным уровнем физического развития представлены в таблицах 2, 3.

Таблица 2 – Результаты функционального тестирования мышц и осмотра дошкольников с разным уровнем физического развития, %

Выявленные отклонения	Всего (n = 111)	Группа 1 (n = 63)	Группа 2 (n = 48)
Не выполнен тест 1	46,0	47,6	43,8
Не выполнен тест 2	57,7	54,0	62,5
Не выполнен тест 3	15,3	12,7	18,8
Нарушения осанки	28,8	31,8	25,0

Таблица 3 – Результаты психофизиологического тестирования дошкольников с разным уровнем физического развития

Показатель	Всего (n = 111)	Группа 1 (n = 63)	Группа 2 (n = 48)
Время простой зрительно-моторной реакции, мс	408,0 ± 9,6	405,1 ± 12,7	411,9 ± 16,1
Максимальная мышечная сила ведущей руки, даН	6,92 ± 0,20	6,80 ± 0,23	7,08 ± 0,35
Силовой индекс, даН/кг	0,310 ± 0,009	0,324 ± 0,012*	0,292 ± 0,011
* статистическая значимость различий с аналогичным показателем в группе 2, p < 0,05.			

Полученные данные свидетельствуют о том, что мышечный тест 1 не выполнили 46,0 % детей, тест 2 – 57,7 %, тест 3 – 15,3 %. Статистически значимых различий в выполнении тестов между группами сравнения не установлено. Нарушения осанки выявлены у 28,8 % осмотренных дошкольников, с близкой частотой среди детей с разным уровнем физического развития.

Средняя скорость простой зрительно-моторной реакции составила 408,0 мс, среднее значение максимальной мышечной силы ведущей руки – 6,92 даН, среднее значение силового индекса 0,310 даН/кг. Необходимо отметить, что силовой индекс был выше в группе детей со средними показателями длины тела (0,342 и 0,292 даН/кг, соответственно, p < 0,05).

По результатам анкетирования родителей дошкольников проанализирована распространенность субъективных жалоб на состояние здоровья детей, данные представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Распространенность отдельных жалоб среди дошкольников с разным уровнем физического развития, %

Субъективные жалобы	Всего (n = 111)	Группа 1 (n = 63)	Группа 2 (n = 48)
Головная боль	6,3	4,8	8,3
Утомляемость	8,1	11,1	4,2
Нарушения сна	7,2	7,9	6,3
Эмоциональная лабильность	10,8	7,9	14,6
Повышенная двигательная активность	55,0	58,7	50,0

Наиболее часто родители отмечали повышенную двигательную активность у детей (55,0 %), у каждого десятого дошкольника родители отмечали эмоциональную лабильность, частые перемены настроения (10,8 %). С достаточно высокой частотой отмечались жалобы на утомляемость – 8,1 %, частые нарушения сна (трудности с засыпанием, ночные пробуждения) – 7,2 %, головные боли – 6,3 %. Распространенность жалоб не имела статистически значимых отличий в группах с разным уровнем физического развития.

Показатель ИМТ характеризует соответствие массы тела длине тела с учетом возрастных нормативов, нутритивный статус ребенка, гармоничность физического развития. По результатам оценки установлено, что 64,0 % дошкольников имели средние значения показателя ИМТ для своего пола и возраста. Доля дошкольников со значением показателя ИМТ выше среднего (избыток массы тела) и высоким (ожирение) составила суммарно 23,4 %, при этом значения ИМТ ниже среднего (пониженное питание) и низкие (недостаточное питание) фиксировались практически вдвое реже – 12,6 % обследованных. Статистически значимых различий в распределении мальчиков и девочек по показателю ИМТ не выявлено. Распределение дошкольников в соответствии с z-scores оценкой ИМТ представлено в таблице 5.

Таблица 5 – Распределение дошкольников по результатам оценки ИМТ, %

Пол	N (кол-во)	Низкий SDS < -2	Ниже среднего SDS от -1 до -2	Средний SDS от -1 до +1	Выше среднего SDS от +1 до +2	Высокий SDS > +2
Мальчики	53	1,9	7,5	66,0	13,2	11,3
Девочки	58	5,2	10,3	62,1	17,2	5,2
Всего	111	3,6	9,0	64,0	15,3	8,1

Для оценки влияния гармоничности физического развития (в соответствии с оценкой ИМТ) на общее функциональное состояние дошкольники были разделены на две группы: группа А – «гармоничное физическое развитие», значения ИМТ в пределах одного стандартного отклонения (71 человек),

группа Б – «дисгармоничное физическое развитие», значения ИМТ отклонялись от медианного более чем на одно стандартное отклонение (40 человек).

Результаты выполнения тестов 1–3 функционального состояния мышц по показателю эластичности, данные о распространенности нарушений осанки, показатели психофизиологического состояния дошкольников двух групп сравнения представлены в таблицах 6, 7.

Таблица 6 – Результаты функционального тестирования мышц и осмотра дошкольников с гармоничным и дисгармоничным физическим развитием, %

Выявленные отклонения	Всего (n = 111)	Группа А (n = 71)	Группа Б (n = 40)
Не выполнен тест 1	46,0	45,1	47,5
Не выполнен тест 2	57,7	56,3	60,0
Не выполнен тест 3	15,3	15,5	15,0
Нарушения осанки	28,8	21,1*	42,5

* статистическая значимость различий с аналогичным показателем в группе Б, $p < 0,05$.

Таблица 7 – Результаты психофизиологического тестирования дошкольников с гармоничным и дисгармоничным физическим развитием

Показатель	Всего (n = 111)	Группа А (n = 71)	Группа Б (n = 40)
Время простой зрительно-моторной реакции, мс	408,0 ± 9,6	390,2 ± 11,1	427,0 ± 20,1
Максимальная мышечная сила ведущей руки, даН	6,92 ± 0,20	7,1 ± 0,3	6,9 ± 0,4
Силовой индекс, даН/кг	0,310 ± 0,009	0,325 ± 0,012	0,301 ± 0,017

Обращает на себя внимание, что распространенность нарушений осанки среди дошкольников с дисгармоничным физическим развитием была в два раза выше, в сравнении с показателем среди дошкольников с гармоничным физическим развитием (42,5 и 21,1 % соответственно, $p < 0,05$). Среди дошкольников с гармоничным физическим развитием наблюдались сравнительно лучшие показатели психофизиологического состояния (более высокая скорость простой сенсомоторной реакции, большие значения максимальной мышечной силы и силового индекса).

Анализ результатов анкетирования родителей выявил различия в распространенности субъективных жалоб среди детей с гармоничным и дисгармоничным физическим развитием (таблица 8).

Таблица 8 – Распространенность отдельных жалоб среди дошкольников с гармоничным и дисгармоничным физическим развитием, %

Субъективные жалобы	Всего (n = 111)	Группа А (n = 71)	Группа Б (n = 40)
Головная боль	6,3	4,2	10,0
Утомляемость	8,1	2,8*	17,5
Нарушения сна	7,2	7,0	7,5
Эмоциональная лабильность	10,8	5,6*	20,0
Повышенная двигательная активность	55,0	50,7	62,5

* статистическая значимость различий с аналогичным показателем в группе Б, $p < 0,05$.

Необходимо отметить, что у детей с дисгармоничным физическим развитием распространенность всех жалоб была выше, статистически значимо чаще отмечалась утомляемость (17,5 и 2,8 %, $p < 0,05$) и эмоциональная лабильность (20,0 и 5,6 %, $p < 0,05$).

Заключение. Сравнительный анализ групп дошкольников с разным уровнем физического развития не выявил существенных различий в показателях функционального состояния. Вероятно, значения длины тела, отклоняющиеся более чем на одно стандартное отклонение от референсных значений ВОЗ (в большинстве случаев в сторону высоких значений), были обусловлены региональными особенностями физического развития детей в Республике Беларусь и не формировали дополнительный риск нарушений функционального состояния дошкольников.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что показатель гармоничности физического развития можно рассматривать как один из индикаторов благополучия дошкольника. Среди детей с дисгармоничным физическим развитием наблюдалась более высокая распространенность нарушений осанки и субъективных жалоб астенического характера, снижение показателей психофизиологического состояния. Дошкольники с дисгармоничным физическим развитием составляют группу риска развития нарушений в состоянии здоровья.

Сведения о НИР. НИР «Разработать и внедрить метод гигиенической оценки мебели с учетом особенностей физического развития воспитанников учреждений дошкольного образования» подпрограммы «Безопасность среды обитания человека» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», 2021–2025 годы, регистрационный номер 20220373.

Литература

1. Методы изучения и оценки физического развития детей и подростков / под ред. Е. С. Богомоловой, Ю. Г. Кузмичев, Н. А. Матвеева [и др.]. – Н. Новгород : НижГМА, 2018. – 92 с.

2. Козакевич, Н. В. Сравнительная характеристика соматометрических показателей городских школьников Беларуси 8–16 лет, обследованных в период с 1925 по 2010–2012 гг. / Н. В. Козакевич, В. А. Мельник // Проблемы здоровья и экологии. – 2020. – № 1. – С. 81–87.

3. Година, Е. З. Секулярный тренд: история и перспективы / Е. З. Година // Физиология человека. – 2009. – Т. 35, № 6. – С. 128–135.

4. Павловская, В. С. Многолетняя динамика изменений антропометрических показателей школьников / В. С. Павловская, М. Г. Калишев, С. И. Рогова // Гигиена и санитария. – 2020. – Т. 99, № 3. – С. 286–290.

5. Динамика соматометрических показателей детей младшего школьного возраста / Н. В. Карпович, Н. А. Грекова, Ю. Н. Полянская, Т. Н. Пронина // Здоровье и окружающая среда : сб. материалов междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 95-летию респ. унитар. предприятия «Научно-практический центр гигиены», г. Минск, 24–25 нояб. 2022 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены, Беларус. науч. о-во гигиенистов ; редкол.: С. И. Сычик (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2022. – С. 332–334.

6. Карпович, Н. В. Физическое развитие и особенности режима дня современных дошкольников / Н. В. Карпович, Н. А. Грекова, Ю. Н. Полянская // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. трудов / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены ; редкол.: С. И. Сычик (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2023. – Вып. 33. – С. 75–81.

7. Храмцов, П. И. Функциональное тестирование мышц в гигиенической оценке профилактической эффективности физического воспитания младших школьников / П. И. Храмцов // Гигиена и санитария. – 2018. – Т. 97, № 9. – С. 848–853.

Grekova N. A., Karpovich N. V., Polyanskaya Y. N., Shepelev D. S.¹, Itpaeva-Liudchyk S. L.

PARAMETERS OF PHYSICAL DEVELOPMENT AND FUNCTIONAL STATE OF PRESCHOOL CHILDREN

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

¹ Healthcare institution «6th City Clinical Hospital», Minsk, Belarus

The article presents the results of assessment of the level and harmony of physical development of 111 preschoolers, an analysis of the indicators of the psychophysiological state and the results of a questionnaire survey of parents on the presence of subjective complaints regarding the health of children. A comparative analysis of the indicators of the functional state of children with different levels and harmony of physical development was performed. Among children with disharmonious physical development, a higher prevalence of posture disorders and subjective complaints of an asthenic nature, a decrease in the indicators of the psychophysiological state were recorded. The results confirm that the indicator of the harmony of physical development can be considered as one of the indicators of the well-being of a preschooler.

Keywords: preschool children, physical development.

References

1. Bogomolova E. S., Kuzmichev Yu. G., Matveeva N. A. et al. Methods for studying and assessing the physical development of children and adolescents. N. Novgorod: NizhGMA; 2018. (in Russian)

2. Kozakevich N. V., Melnik V. A. Comparative characteristics of the somatometric parameters of city school children of Belarus aged 8–16 examined in the period from 1925 to 2010–2012. *Health Ecol Issues*. 2020; 63 (1): 81–7. (in Russian)

3. Godina E. Z. The secular trend: history and prospects. *Hum Physiol.* 2009; 35(6): 770–6. (in Russian)
4. Pavlovskaja V. S., Kalishev M. G., Rogova S. I. Long-term dynamics of changes of anthropometrical indices of school students. *Hyg Sanit.* 2020; 99(3): 286–90. (in Russian)
5. Karpovich N. V., Grekova N. A., Polyanskaya Y. N., Pronina T. N. Dynamics of primary schoolchildren's somatometric indicators. In: Sychik S. I., chief ed. *Health and environment: Proceedings of the International scientific and practical conference.* Minsk; 2022: 332–4. (in Russian)
6. Karpovich N. V., Grekova N. A., Polyanskaya Y. N. Physical development and features of modern preschool children's daily routine. In: Sychik S. I., chief ed. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda (Health and environment): Collection of scientific papers of the Scientific Practical Centre of Hygiene.* Iss. 33. Minsk; 2023: 75–81. (in Russian)
7. Khramcov P. I. Functional testing of the muscles in the hygienic evaluation of the preventive efficacy of physical education in primary school. *Hyg Sanit.* 2018; 97(9): 848–53. (in Russian)

e-mail для переписки: karpovich-nv@mail.ru

Поступила 08.10.2024

УДК 159.944-057.874"329.1/.5"

Гузик Е. О., Коледа А. Г., Янковская Н. Г., Трошкина В. А., Сидукова О. Л.

ХАРАКТЕРИСТИКА УМСТВЕННОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ УЧАЩИХСЯ БАЗОВОЙ И СРЕДНЕЙ ШКОЛЫ В ДИНАМИКЕ УЧЕБНОЙ НЕДЕЛИ КАК КРИТЕРИЙ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ

*Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь*

Аннотация. Для обеспечения гармоничного развития подрастающего поколения необходимо систематическое изучение возрастной эволюции функциональных систем, их деятельности в критические периоды развития. Умственная работоспособность интегрирует основные свойства психики (восприятие, внимание, память), адекватно определяет адаптационные способности учащихся и наиболее оптимально отражает функциональное состояние организма. Для оценки умственной работоспособности 2361 учащегося 5–11 классов (1267 девочек и 1094 мальчиков) использован метод корректурных проб путем дозированных заданий с помощью тестовых бланков В. Я. Анфимова в модификации, предложенной Всероссийским научно-исследовательским институтом гигиены детей и подростков. У учащихся от 5 к 11 классу установлено увеличение количества просмотренных знаков при уменьшении количества ошибок в пересчете на 500 знаков. Количество просмотренных знаков выше у 36,9 % девочек. У 26,2 % мальчиков больше количество ошибок в пересчете на 500 знаков. В понедельник и пятницу у каждого четвертого, в среду у каждого пятого учащегося к концу учебного дня наблюдается выраженное утомление. Полученные результаты целесообразно учитывать при нормировании организации образовательного процесса, обучении педагогических и медицинских работников учреждений образования, законных представителей обучающихся вопросам профилактики развития выраженного утомления.

Ключевые слова: учащиеся 5–11 классов, образовательный процесс, умственная работоспособность, выраженное утомление, учебная неделя.

Введение. Получение базового и общего среднего образования в школах и гимназиях Республики Беларусь направлено на интеллектуальное, духовно-нравственное, творческое, физическое и профессиональное развитие личности, удовлетворение ее образовательных потребностей и интересов, а также совокупность приобретенных знаний, умений, навыков и компетенций определенного объема и сложности [1]. Период обучения – это один из самых напряженных периодов умственного и физического развития, полового созревания ребенка – период формирования здоровья взрослого человека. Результаты многочисленных научных исследований свидетельствуют, что в период обучения у детей и подростков наблюдаются неблагоприятные тенденции в состоянии здоровья [2, 3]. Это во многом обусловлено нарушением гигиенических требований при организации образовательного процесса.

К ним относится стрессогенное влияние повышенного объема учебной нагрузки и интенсификации обучения, а также низкая двигательная активность детей в сочетании с нерациональной организацией внеучебного времени, характеризующейся длительным использованием компьютеров, планшетов, смартфонов, сокращением продолжительности ночного сна и прогулок [4–6].

Наиболее оптимальным показателем, отражающим функциональное состояние организма детей школьного возраста, который интегрирует основные свойства психики (восприятие, внимание, память и др.), является умственная работоспособность в каждый отрезок времени, что адекватно определяет их адаптационные способности [7, 8]. Изучением умственной работоспособности детей на протяжении многих лет занимались представители различных специальностей, таких как психология, гигиена, физиология, биология, педагогика и др. В каждой области ученые связывают данное понятие с теми аспектами проблемы, которые являются целью исследования данной науки.

Согласно современным представлениям, умственная работоспособность – свойство человека, определяемое состоянием высших психических функций и характеризующее его способность выполнять определенную деятельность с требуемым качеством и в течение требуемого интервала времени. Ее критерием служат такие показатели, как продуктивность работы, качество и точность (безошибочность работы или наличие ошибок, обусловленных утомлением).

В условиях социально-экономических преобразований, происходящих в Республике Беларусь, обостряется противоречие между растущей потребностью общества в активных, здоровых людях и ухудшающимся здоровьем детей. Для обеспечения гармоничного развития подрастающего поколения необходимо систематическое изучение возрастной эволюции функциональных систем, их деятельности в критические периоды развития современного подростка.

Цель работы – изучить динамику умственной работоспособности учащихся базовой и средней школы в течение учебного недели.

Материалы и методы. Показатели умственной работоспособности учащихся изучались в условиях естественного эксперимента. Использован метод дозированного во времени задания с использованием буквенных таблиц В. Я. Анфимова в модификации Научно-исследовательского института гигиены детей и подростков. Использовали 2-минутный корректурный тест. По инструкции дети, последовательно просматривая строчки букв слева направо, отыскивали две из них заданные. Одну из них зачеркивали, другую – подчеркивали. Задания выполнялись на первом и последнем уроках в понедельник, среду и пятницу в начале и в конце 2-й учебной четверти. Данные исследований, проведенных на первых уроках в каждый из исследованных учебных дней, принимались за исходные.

При обработке корректурных таблиц анализировали: количество прослеженных знаков, характеризующее скорость работы, количество ошибок, допущенных на 500 знаков – показатель точности работы.

Для оценки влияния дневной учебной нагрузки на функциональное состояние центральной нервной системы детей школьного возраста по показателям корректурного теста оценивалось распределение выполненных корректурных заданий по сдвигам умственной работоспособности у каждого ученика (степень выраженности изменений скорости и точности выполнения корректурной пробы к концу учебного дня). За отсутствие сдвига принимали изменение количества просмотренных символов в пределах + 5 %, а изменение количества ошибок – в пределах + 0,5 на 500 знаков относительно исходных значений соответствующих показателей. В зависимости от полученных сдвигов скорости и точности выполнения работ у обследованных учащихся выявили следующие индивидуальные сдвиги показателей корректурной работы: без изменений, вработывание, первые признаки утомления, утомление, выраженное утомление [9, 10].

Всего был обследован 2361 учащийся 5–11 классов в возрасте 10–18 лет, в том числе: 1267 девочек и 1094 мальчиков.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.1 и Microsoft Excel 2013. Поскольку распределение в сравниваемых группах величин полученных данных отличалось от нормального, результаты представлены в виде медианы с интерквартильным интервалом Me [P25; P75], статистическую значимость различий между группами оценивали методами непараметрической статистики (Т-критерий Вилкоксона, U-тест Манна – Уитни). В качестве порогового уровня статистической значимости при применении любых статистических методов принято значение $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Результаты проведенного исследования свидетельствуют, что в дни наблюдения имеют место статистически значимые различия в количественных показателях умственной работоспособности в зависимости от года обучения и пола (U-тест Манна – Уитни, $p < 0,05$). Так,

в понедельник утром на второй неделе 2-й учебной четверти скорость выполнения работы варьирует от 278,0 [204,0; 335,0] просмотренных знаков у мальчиков 5 классов до 400,5 [326,5; 476,5] просмотренных знаков у девочек 10 класса (таблица 1). Наиболее высокая точность выполнения работы у девочек 10 классов (3,1 [1,3; 5,9] ошибок в пересчете на 500 знаков). Максимальное количество ошибок в пересчете на 500 знаков выявлено на первом уроке в понедельник у мальчиков 6 классов (6,0 [2,1; 9,7]). При этом от 5 к 11 классу отмечается тенденция увеличения количества просмотренных знаков при уменьшении количества ошибок в пересчете на 500 знаков как среди мальчиков, так и среди девочек во все учебные дни анализируемого периода.

Таблица 1 – Показатели умственной работоспособности учащихся 5–11 классов в понедельник на 2-й неделе 2-й четверти, Ме [25; 75]

Год обучения	Количество просмотренных знаков			Количество ошибок на 500 знаков		
	1-й урок	последний урок	Т-критерий Вилкоксона, р	1-й урок	последний урок	Т-критерий Вилкоксона, р
Мальчики						
5-й класс	278,0 [204,0; 335,0]	240 [169,0; 303,0]	0,000012	5,6 [2,1; 10,7]	7,4 [3,1; 16,0]	0,000004
6-й класс	280* [220,0; 327,0]	240,0* [200,0; 292,0]	0,000010	6,0* [2,1; 9,7]	6,3* [2,5; 11,5]	0,007562
7-й класс	293,0* [240,0; 347,0]	280,0* [216,0; 329,0]	0,002074	5,1 [2,0; 10,7]	6,0 [2,1; 11,1]	0,386748
8-й класс	320,0 [230,0; 389,0]	280,0 [200,0; 364,0]	0,000427	3,9* [2,0; 9,4]	6,0* [3,0; 11,4]	0,000775
9-й класс	319,0* [254,0; 390,0]	290,0* [212,0; 366,0]	0,001232	3,8 [1,5; 9,2]	5,2 [1,8; 9,7]	0,005402
10-й класс	374,0* [300,0; 440,0]	386,5* [293,0; 468,0]	0,583709	3,6 [1,4; 8,3]	3,8 [1,5; 7,4]	0,564726
11-й класс	355,5* [273,0; 440,0]	323,0* [240,0; 400,0]	0,001317	3,4 [1,3; 6,7]	3,7 [1,2; 8,3]	0,668127
Девочки						
5-й класс	280,0 [220,0; 352,0]	252,0 [200,0; 331,0]	0,000015	5,0 [2,0; 9,4]	6,3 [2,1; 12,5]	0,000061
6-й класс	285,0* [240,0; 352,0]	270,0* [226,0; 320,0]	0,000000	3,5* [0,1; 7,3]	5,9 [2,4; 11,0]	0,000003
7-й класс	320,0* [258,0; 389,0]	295,5* [244,0; 360,0]	0,004304	4,6 [2,0; 9,7]	5,7 [2,8; 11,4]	0,001086
8-й класс	324,0 [266,0; 440,0]	318,0 [238,0; 400,0]	0,000000	3,1* [1,0; 6,8]	4,3* [2,0; 9,5]	0,002708
9-й класс	387,0* [320,0; 445,0]	355,5* [245,0; 418,0]	0,000000	3,6 [1,5; 7,0]	5,3 [2,2; 9,5]	0,003540
10-й класс	400,5 [326,5; 476,5]	400,0 [350,0; 460,5]	0,525078	3,1 [1,3; 5,9]	3,3 [1,3; 6,0]	0,984565
11-й класс	398,0* [327,0; 460,0]	360,0* [316,0; 438,0]	0,004281	3,5 [1,2; 7,2]	4,1 [1,7; 6,7]	0,350552
* статистически значимые различия в показателях работоспособности между мальчиками и девочками (U-тест Манна – Уитни, $p < 0,05$).						

При изучении динамики умственной работоспособности в течение учебного дня в понедельник 2-й четверти установлено статистически значимое снижение в зависимости от года обучения и пола количества просмотренных знаков как среди мальчиков, так и среди девочек 5–9 и 11 классов (таблица 1). Статистически значимое увеличение количества ошибок в пересчете на 500 знаков выявлено у мальчиков 5, 6, 8 и 9 классов, а также у девочек 5–9 классов (Т-критерий Вилкоксона, $p < 0,05$).

На 2-й неделе второй четверти в динамике учебного дня наблюдалось снижение количества просмотренных знаков в понедельник и среду на 6,3 %, в пятницу – на 2,7 % (Т-критерий Вилкоксона, $p = 0,00$) (рисунок 1). При этом выявлено увеличение количества ошибок в пересчете на 500 знаков в понедельник (на 26,8 %) и пятницу (на 26,3 %) (Т-критерий Вилкоксона, $p = 0,0000$). В среду изменения количества ошибок в пересчете на 500 знаков не выявлено (Т-критерий Вилкоксона, $p > 0,05$).

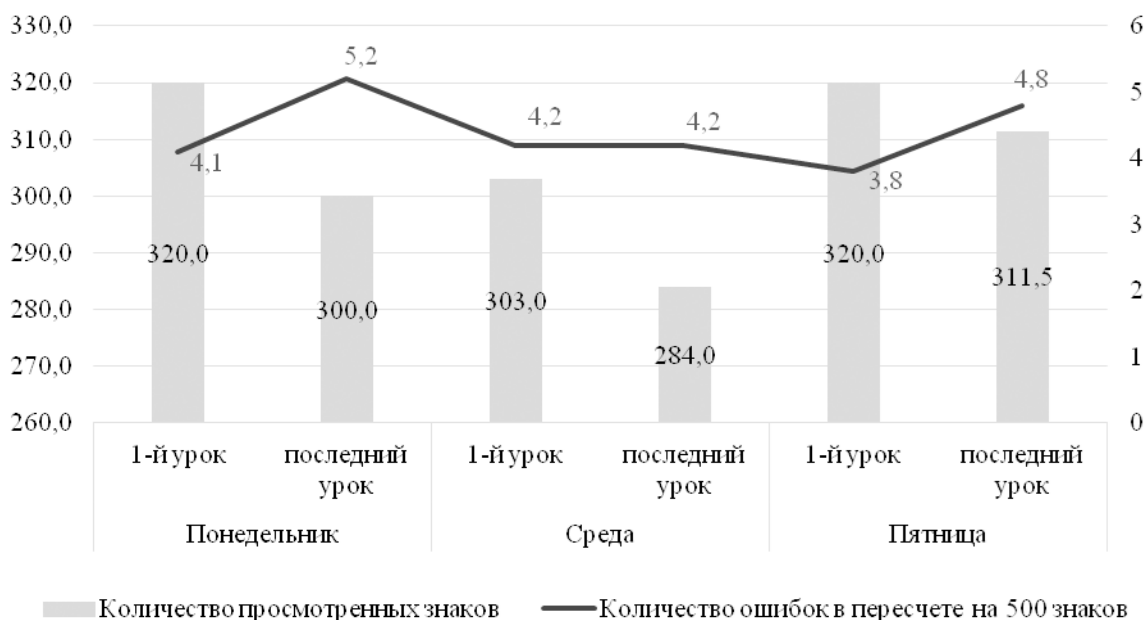


Рисунок 1 – Динамика показателей умственной работоспособности учащихся 5–11 классов (2-я неделя 2-й четверти)

На предпоследней неделе 2-й четверти у учащихся 5–11 классов установлено снижение количества просмотренных знаков в понедельник (на 6,7 %) и пятницу (на 4,9 %) (Т-критерий Вилкоксона, $p = 0,0000$). Увеличение количества ошибок в пересчете на 500 знаков выявлено в понедельник, среду и пятницу на 21,1 %, 5,0 % и 25,6 %, соответственно (Т-критерий Вилкоксона, $p = 0,0000$) (рисунок 2).

На выявленные особенности динамики показателей умственной работоспособности учащихся в конце учебной четверти целесообразно обращать внимание педагогических работников и законных представителей обучающихся в связи с проведением в этот период значительного количества итоговых аттестаций.

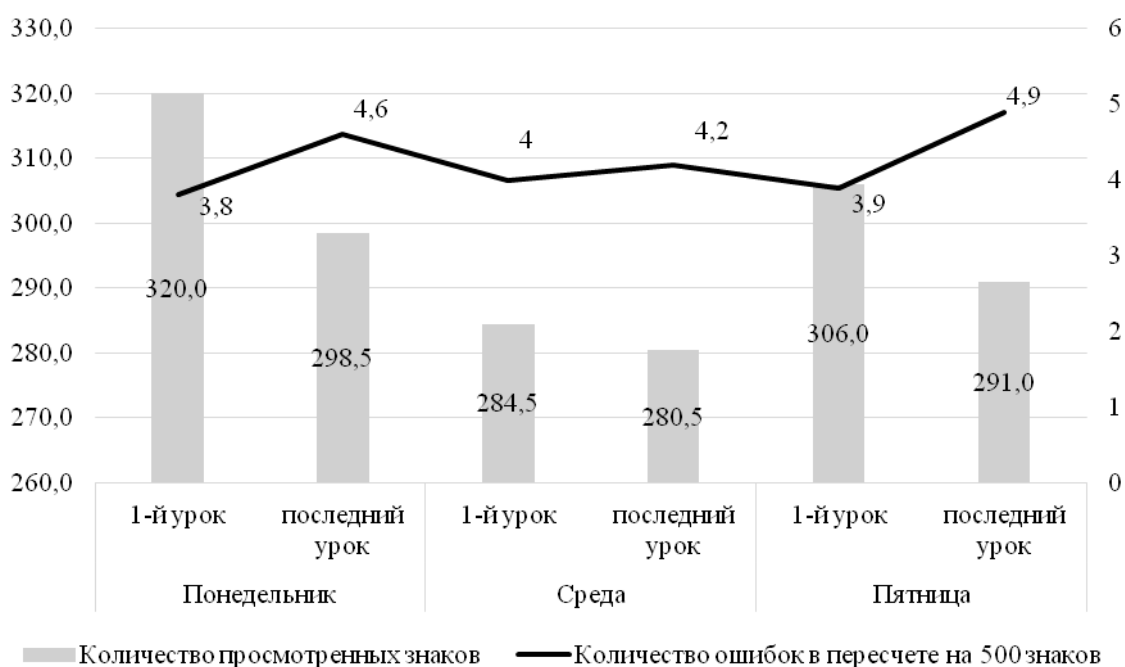


Рисунок 2 – Динамика показателей умственной работоспособности учащихся 5–11 классов (предпоследняя неделя 2-й четверти)

В пятницу на предпоследней неделе 2-й четверти снижение количества просмотренных знаков установлено у мальчиков 7, 8 и 11 классов и у девочек 6–8 классов (U-тест Манна – Уитни, $p < 0,05$). При этом отмечается увеличение количества ошибок в пересчете на 500 знаков у мальчиков 7–9 и 11 классов и у девочек 7, 8 и 10 классов (U-тест Манна – Уитни, $p < 0,05$).

Анализ результатов изучения умственной работоспособности в понедельник, среду и пятницу в начале и в конце 2-й учебной четверти свидетельствует, что количество просмотренных знаков у девочек в 36,9 % случаев выше, чем у мальчиков (U-тест Манна – Уитни, $p < 0,05$), количество ошибок в пересчете на 500 знаков у девочек меньше по сравнению с мальчиками в 26,2 % случаев (U-тест Манна – Уитни, $p < 0,05$). Выявленные гендерные различия целесообразно учитывать при организации образовательного процесса.

Анализ индивидуальных данных динамики показателей умственной работоспособности свидетельствует, что в понедельник как в начале, так и в конце учебной четверти, у каждого четвертого (26,4 %) учащегося 5–11 классов наблюдается выраженное утомление к концу учебного дня.

В среду как в начале, так и в конце учебной четверти, к концу учебного дня выраженное утомление наблюдается у каждого пятого учащегося. В пятницу к концу учебного дня у 22,4 % учащихся 5–11 классов выявлено выраженное утомление на 2-й неделе 2-й четверти и у 25,0 % учащихся на предпоследней неделе 2-й четверти.

Заключение. В условиях интенсификации образовательного процесса, активного использования информационных технологий в процессе обучения, регулярной корректировки учебных программ, роста умственно-эмоциональных нагрузок, уменьшения двигательной активности на фоне социальных и экономических преобразований, происходящих в обществе, большое значение приобретают вопросы оптимизации учебной деятельности, предупреждения негативных последствий психологического дистресса и умственного перенапряжения учащихся. Гигиенические исследования последних лет убедительно показывают, что, несмотря на все попытки нормализовать объем образовательных нагрузок учащихся, их реального снижения не происходит.

При изучении динамики умственной работоспособности в течение учебной недели установлено, что от 5 к 11 классу наблюдается увеличение количества просмотренных знаков при уменьшении количества ошибок в пересчете на 500 знаков. Количество просмотренных знаков выше у 36,9 % девочек. При этом у 26,2 % мальчиков больше количество ошибок в пересчете на 500 знаков. Выявленные гендерные различия целесообразно учитывать педагогическим работникам при организации образовательного процесса.

В понедельник и пятницу у каждого четвертого, в среду у каждого пятого учащегося к концу учебного дня наблюдается выраженное утомление. Полученные результаты целесообразно использовать при нормировании организации образовательного процесса, обучении педагогических и медицинских работников учреждений образования, законных представителей обучающихся вопросам сохранения здоровья учащихся в процессе обучения.

Целесообразным является гигиеническая оценка и ранжирование эндогенных и экзогенных факторов, способствующих развитию выраженного утомления учащихся, что необходимо учитывать для научного обоснования профилактических мероприятий.

Сведения о НИР. НИР «Изучить влияние эндогенных и экзогенных факторов на показатели умственной работоспособности учащихся 5–11 классов» (ГПНИ «Трансляционная медицина», подпрограмма 4.3 «Инновационные технологии клинической медицины»), регистрационный номер 20240370.

Литература

1. Кодекс Республики Беларусь об образовании : 13 января 2011 г. № 243-З : принят Палатой представителей 2 декабря 2010 г. : одобр. Советом Респ. 22 декабря 2010 г. : в ред. Закона Респ. Беларусь от 18 июля 2016 г. № 231-З. – Минск : Нац. центр правовой информ. Респ. Беларусь, 2016. – 398 с.
2. Сухарева, Л. М. Заболеваемость и умственная работоспособность московских школьников / Л. М. Сухарева, И. К. Рапопорт, М. А. Поленова // Гигиена и санитария. – 2014. – Т. 93, № 3. – С. 64–67.
3. Гузик, Е. О. Здоровье учащихся Республики Беларусь и пути минимизации факторов риска его формирующих / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Белорус. мед. акад. последиплом. образования ; Е. О. Гузик. – Минск : БелМАПО, 2020. – 334 с.
4. Гигиеническая оценка инновационных образовательных технологий в начальной школе / В. Р. Кучма, Е. А. Ткачук, Н. В. Шишарина, О. Л. Подлиняев // Гигиена и санитария. – 2019. – Т. 98, № 3. – С. 288–293.

5. Александрова, И. Э. Физиолого-гигиенические аспекты организации домашней учебной работы школьников (научный обзор) / И. Э. Александрова // Здоровье населения и среда обитания. – 2022. – № 8. – С. 17–24.

6. Гигиенические проблемы организации внеурочной деятельности школьников / А. В. Суворова, И. Ш. Якубова, Л. А. Аликбаева [и др.] // Профилактическая и клиническая медицина. – 2021. – № 4. – С. 20–26.

7. Вахтанова, Г. М. Оценка умственной работоспособности школьников, обучающихся во вторую смену, в условиях пандемии COVID-19 / Г. М. Вахтанова, А. А. Гузнова // Проблемы экологического образования в XXI веке : тр. VI Междунар. науч. конф. (очно-заочной), Владимир, 24 нояб. 2022 г. / М-во науки и высш. обр. Рос. Федерации, Владимир. гос. ун-т им. Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых ; редкол.: Е. П. Грачева (отв.ред.) [и др.]. – Владимир, 2022. – С. 135–140.

8. Гузик, Е. О. Характеристика умственной работоспособности учащихся крупного промышленного центра в динамике учебной четверти / Е. О. Гузик, О.Л. Сидукова, Н. Г. Янковская // Здоровье и окружающая среда : сб. материалов междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 95-летию санитар.-эпидем. службы Респ. Беларусь, г. Минск, 30 сент. – 1 окт. 2021 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены ; редкол. : С. И. Сычик (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2021. – С. 70–71.

9. Исследование умственной работоспособности : метод. рекомендации / М-во науки и высш. образования Рос. Федерации. Курган. гос. ун-т ; А. П. Кузнецов, Л. Н. Смелышева, Н. В. Сажина, О. А. Архипова. – Курган : Изд-во КГУ, 2019. – 43 с.

10. Рукавкова, Е. М. Динамика умственной работоспособности школьников 1-3-ей групп здоровья / Е. М. Рукавкова, Л. И. Бубликова // Медицинский альманах. – 2018. – № 4. – С. 138–142.

Guzik E. O., Koleda A. G., Yankovskaya N. G., Troshkina V. A., Sidukova O. L.

CHARACTERISTICS OF MENTAL PERFORMANCE OF BASIC AND SECONDARY SCHOOL STUDENTS IN THE DYNAMICS OF THE SCHOOL WEEK, AS A CRITERION OF FUNCTIONAL CAPABILITIES

Educational institution «Belarusian State Medical University», Minsk, Belarus

To ensure harmonious development of the younger generation, it is necessary to systematically study the age-related evolution of functional systems and their activity during critical periods of development. Mental performance integrates the main properties of the psyche (perception, attention, memory), adequately determines the adaptive abilities of students and most optimally reflects the functional state of the body. To assess the mental performance of 2361 students in grades 5–11 (1267 girls and 1094 boys), the proofreading test method was used by administering dosed tasks using V. Ya. Anfimov's test forms in the modification proposed by the All-Russian Research Institute of Child and Adolescent Hygiene. It was established that from the 5th to the 11th grade, the number of viewed characters increased while the number of errors per 500 characters decreased. The number of viewed characters was higher in 36.9 % of girls. 26.2 % of boys had a higher number of errors per 500 characters. On Monday and Friday, every fourth student, on Wednesday, every fifth student experiences severe fatigue by the end of the school day. It is advisable to take the obtained results into account when standardizing the organization of the educational process, training pedagogical and medical workers of educational institutions, legal representatives of students in issues of preventing the development of severe fatigue.

Keywords: students in grades 5–11, educational process, mental performance, severe fatigue, school week.

References

1. Kodeks Respubliki Belarus' ob obrazovanii: 13 yanvarya 2011 g. № 243-Z: Prinyat Palatoy predstaviteley 2 dekabrya 2010 g.: Odobr. Sovetom Resp. 22 dekabrya 2010 g.: V red. Zakona Resp. Belarus ot 18 iyulya 2016 g. № 231-Z. Minsk; 2016. (in Russian)

2. Sukhareva L. M., Rapoport I. K., Polenova M. A. Morbidity and mental performance of Moscow schoolchildren. Hyg Sanit. 2014; (3): 64–7. (in Russian)

3. Guzik E. O. Zdorov'e uchashchikhsya Respubliki Belarus' i puti minimizatsii faktorov riska ego formiruyushchikh. Minsk; 2020. (in Russian)

4. Kuchma V. R., Tkachuk E. A., Shisharina N. V., Podlinyaev O. L. Hygienic assessment of innovative educational technologies in primary school. Hyg Sanit. 2019; 98(3): 288–93. (in Russian)

5. Aleksandrova I. E. Physiological and hygienic aspects of organizing homework for schoolchildren (scientific review). *Public Health Life Environ.* 2022; 8, 17–24. (in Russian)

6. Suvorova A. V., Yakubova I. Sh., Alikbaeva L. A., Erastova N. V. et al. Hygienic problems of organizing extracurricular activities for schoolchildren. *Profilakt i klin meditsina*, 2021; 4: 20–6. (in Russian)

7. Vakhtanova G. M. Assessing the mental performance of schoolchildren studying in the second shift during the COVID-19 pandemic. In: *Problemy ekologicheskogo obrazovaniya v XXI veke: Proceedings of the International scientific and practical conference*. Vladimir; 2022: 135–40. (in Russian)

8. Guzik E. O., Sidukova O. L., Yankovskaya N. G. Characteristics of mental performance of students in a large industrial center in the dynamics of the academic quarter. In: Sychik S. I., chief ed. *Health and environment: Proceedings of the International scientific and practical conference*. Minsk; 2021: 70–1. (in Russian)

9. Kuznetsov A. P, Smelysheva L. N., Sazhina N. V., Arkhipova O. A. Research on mental performance: metod. rek. Kurgan; 2019. (in Russian)

10. Rukavkova E. M., Bublikova L. I. Dynamics of mental performance of schoolchildren of health groups 1-3. *Meditsinskiy al'manakh*, 2018; 4: 138–42. (in Russian)

e-mail для переписки: romanuk88@rambler.ru

Поступила 17.10.2024

УДК 613.955

Храмцов П. И.^{1,2,3}, Разова Е. В.^{2,3}, Антонова Е. В.¹, Храмцова С. Н.²

РОЛЬ УЧАСТНИКОВ ЗДОРОВЬЕСБЕРЕГАЮЩЕГО ПРОЦЕССА В ФОРМИРОВАНИИ ЗДОРОВЬЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ

¹ *Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва, Россия*

² *Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Государственный университет просвещения» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, г. Москва, Россия*

³ *Национальная ассоциация учителей физической культуры, г. Москва, Россия*

Аннотация. Формирование здоровья детей является сложным многокомпонентным процессом, объединяющим усилия всех субъектов здоровьесберегающего процесса. Цель исследования – оценка мнения обучающихся о собственной роли и роли родителей, врачей и педагогов в сохранении их здоровья. В процессе онлайн-анкетирования 60 823 обучающихся 5–9-х классов из 28 регионов страны отмечали один из вариантов ответа на вопрос «Как ты считаешь, кто должен заботиться о твоём здоровье?»: ты сам (-а), родители, врачи, учителя. Установлено, что 71,3 % респондентов считают, что о своём здоровье они должны заботиться сами, 19,7 % – родители, 8,1 % – врачи и 0,9 % – учителя. С возрастом растёт количество детей, возлагающих ответственность за своё здоровье на себя: в 5-х классах – 58,6 % мальчиков и 55,5 % девочек, в 9-х классах, соответственно, 77,5 % ($p < 0,05$) и 80,8 % ($p < 0,05$). Основную роль в формировании своего здоровья отводят врачам не более 10 % респондентов, учителям – не более 1,5 %. Таким образом, обучающиеся недооценивают роль врачей и педагогов в сохранении и укреплении их здоровья. Необходимо внедрять современные технологии здоровьесбережения детей в образовательных организациях.

Ключевые слова: участники здоровьесберегающего процесса, обучающиеся 5–9-х классов, онлайн-анкетирование.

Введение. Состояние здоровья является многофакторной категорией, зависящей от различных факторов, в том числе от субъективных установок личности в отношении здоровья, роли самих субъектов в способности участвовать в формировании своего здоровья [1–4]. Особое значение это приобретает для детей и подростков в связи с особенностями их роста и развития, в том числе особенностями формирования у них с возрастом ценностного отношения к здоровью [5–7].

Представляет несомненный научный интерес выявление особенностей отношения к своему здоровью детей и подростков в зависимости от пола. По результатам ранее проведенных исследований

установлено, что 40 % учащихся оценивают свое состояние здоровья как «хорошее», а 53 % вообще не беспокоятся о здоровье [1]. Они чаще недооценивают нарушения состояния своего здоровья, не относятся критически к последствиям влияния потенциально вредных для здоровья условий и факторов.

Информация о субъективной оценке отношения к формированию здоровья у детей и подростков позволяет принимать обоснованные прогностические решения при разработке программ их гигиенического обучения и воспитания, повышения здоровьесберегающих компетенций, а также оценке эффективности медико-профилактических технологий здоровьесбережения обучающихся в условиях образовательных организаций [8–10].

Цель работы – оценить мнение обучающихся 5–9-х классов о роли участников здоровьесберегающего процесса в формировании их здоровья.

Материалы и методы. Проведено онлайн-анкетирование 60 823 обучающихся 5–9-х классов 28 регионов страны. Наиболее активное участие в исследовании приняли региональные отделения Национальной ассоциации учителей физической культуры Ставропольского края (41,1 %) и Рязанской области (24,1 %). Респонденты других регионов составили менее 10 % (Московская область – 9,6 %; Красноярский край – 8,9 %; Ростовская область – 2,7 %; Ярославская область – 2,0 %; Москва – 1,3 %) и др.

В процессе онлайн-анкетирования обучающиеся отмечали один из вариантов ответа на вопрос «Как ты считаешь, кто должен заботиться о твоём здоровье?»: ты сам (-а), родители, врачи, учителя.

Исследование проведено в марте 2024 года. Критериями включения являлся класс обучения с 5-го по 9-й и добровольное участие в анкетировании.

По результатам анкетирования сформирована электронная база данных, обработка которой проведена с помощью пакета статистических прикладных программ SPSS v 21.

Варианты ответов анализировались дифференцированно в зависимости от пола и класса обучения. Для оценки достоверности различия сравниваемых величин рассчитывался 95% доверительный интервал с помощью онлайн-калькулятора: <http://vassarstats.net/prop1.htm>.

Результаты и их обсуждение. Распределение обучающихся 5–9-х классов, принявших участие в онлайн-анкетировании, в зависимости от возраста и пола, представлено в таблице 1.

Таблица 1 – Распределение обучающихся 5–9-х классов, принявших участие в онлайн-анкетировании, в зависимости от пола и класса обучения

Классы	Мальчики		Девочки		Всего	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
5-е	5706	20,9	6975	20,8	12 681	20,8
6-е	5395	19,8	6426	19,1	11 821	19,5
7-е	5361	19,7	6490	19,3	11 851	19,5
8-е	5462	20,1	7019	20,9	12 481	20,5
9-е	5305	19,5	6684	19,9	11 989	19,7
5–9-е	27 229	100	33 594	100	60 823	100

Данные свидетельствуют о том, что распределение обучающихся по классам обучения было примерно одинаковым и составляло 19,5–20,8 % в каждом классе. Количество мальчиков было 44,8 %, девочек – 55,2 %.

Распределение обучающихся разных классов по вариантам ответов на вопрос о том, кто должен заботиться об их здоровье, представлено в таблице 2.

Таблица 2 – Распределение обучающихся 5–9-х классов разного пола по вариантам ответов на вопрос «Как ты считаешь, кто должен заботиться о твоём здоровье?»

Классы	Вариант ответа	Мальчики			Девочки		
		абс.	%	95% ДИ	абс.	%	95% ДИ
5-е	1	3342	58,6	57,3–59,8	3873	55,5	54,4–56,7
	2	1920	33,6	32,4–34,9	2533	36,3	35,2–37,0
	3	414	7,3	6,6–7,9	535	7,7	7,0–8,3
	4	30	0,5	0,3–0,7	34	0,5	0,3–0,7

Классы	Вариант ответа	Мальчики			Девочки		
		абс.	%	95% ДИ	абс.	%	95% ДИ
6-е	1	3398	64,2	62,9–65,5	4097	63,8	62,6–64,9
	2	1399	26,4	25,2–27,6	1788	27,8	26,7–28,9
	3	461	8,7	7,9–9,5	516	8,0	7,4–8,7
	4	37	0,7	0,5–0,9	25	0,4	0,2–0,5
7-е	1	3607	67,3	66,0–66,5	4637	71,4	70,3–72,5
	2	1167	21,8	20,7–22,9	1327	20,4	19,5–21,4
	3	535	10,0	9,2–10,8	486	7,5	6,8–8,1
	4	52	1,0	0,7–1,2	40	0,6	0,4–0,8
8-е	1	4037	73,9	72,7–75,1	5431	77,4	76,4–78,4
	2	809	14,8	13,9–15,8	1007	14,3	13,5–15,2
	3	548	10,0	9,2–10,8	536	7,6	7,0–8,3
	4	68	1,2	1,0–1,5	45	0,6	0,5–0,8
9-е	1	4110	77,5	76,3–78,6	5399	80,8	79,8–81,7
	2	577	10,9	10,0–11,7	739	11,1	10,3–11,8
	3	538	10,1	9,3–11,0	473	7,1	6,5–7,7
	4	80	1,5	1,2–1,8	73	1,1	0,8–1,3

Примечание – варианты ответов: 1 – ты сам (-а), 2 – родители, 3 – врачи, 4 – учителя.

Сравнение значений распределения обучающихся 5–9-х классов по вариантам ответов выявило общую закономерность, состоящую в том, что независимо от класса обучения во всех случаях дети и подростки отводят основную роль в формировании их здоровья самим себе. Это относится как к мальчикам, так и к девочкам. Причем с возрастом от класса к классу происходит увеличение количества детей, указывающих, что основную ответственность за свое здоровье они возлагают на себя. В 5-х классах таких детей было 58,6 % (95% ДИ 57,3–59,8 %) среди мальчиков и 55,5 % (95% ДИ 54,4–56,7 %) среди девочек.

В 9-х классах количество подростков, отметивших себя как основного ответственного за собственное здоровье, увеличилось в 1,3 раза среди мальчиков, составив 77,5 % (95% ДИ 76,3–78,6 %; $p < 0,05$) и в 1,5 раза среди девочек – 80,8 % (95% ДИ 79,8–81,7 %; $p < 0,05$).

Следует также отметить, что различия в количестве мальчиков и девочек, указавших себя в качестве основного ответственного за свое собственное здоровье, от класса к классу статистически достоверны ($p < 0,05$).

Второе ранговое место среди участников здоровьесберегающего процесса в формировании здоровья детей и подростков по результатам онлайн-анкетирования занимают родители. По мере взросления детей значимость родителей в формировании их здоровья, по мнению самих обучающихся, снижается. Если в 5-х классах отношение количества детей, указавших основную роль в формировании их здоровья самих себя, к количеству детей, указавших основную роль в формировании их здоровья своих родителей, составило среди мальчиков – 1,7, среди девочек – 1,5, то в 9-х классах это отношение составило, соответственно, 7,1 и 7,3.

Таким образом, установлена закономерность последовательного от класса к классу увеличения количества детей, отметивших основную роль в формировании их здоровья самих себя, и снижения количества детей, отметивших основную роль родителей в формировании их здоровья.

Третье ранговое место в формировании здоровья обучающихся, по мнению самих обучающихся, занимают врачи. Причем количество детей, возлагающих основную функцию в формировании их здоровья на врачей, отмечено примерно одинаковым количеством детей и подростков во всех классах и составило не более 10 % (7,3 % в 5-х классах; 8,7 % в 6-х классах; 10,0–10,1 % в 7–9-х классах).

Полученные данные указывают на то, что дети и подростки отводят незначительную роль медицинским работникам в формировании их здоровья.

Четвертое место и совсем незначительную роль в формировании собственного здоровья дети и подростки отвели учителям. Количество таких детей составило не более 1,5 % (0,5 % в 5-х классах; 0,7 % в 6-х классах; 1,0 % в 7-х классах; 1,2 % в 8-х классах и 1,5 % в 9-х классах).

Заключение. Полученные данные свидетельствуют о том, что обучающиеся 5–9-х классов отводят незначительную роль врачам и учителям в сохранении и укреплении их здоровья. Это определяет необходимость поиска технологий и обоснования механизмов вовлечения медицинских работников и педагогов в формирование здоровья детей и подростков. Потенциальные здоровьесберегающие возможности педагогов очень значимы, их необходимо развивать, разрабатывать технологии сохранения здоровья обучающихся посредством повышения здоровьесберегающих компетенций самих педагогов и обучающихся.

Сведения о НИР. НИР «Системные профилактические технологии формирования здоровья обучающихся в образовательных организациях», регистрационный номер 122040800175-2.

Литература

1. Рапопорт, И. К. Одиннадцатилетнее лонгитудинальное наблюдение: распространенность и течение функциональных отклонений и хронических болезней у московских школьников / И. К. Рапопорт, Л. М. Сухарева // Вопросы школьной и университетской медицины и здоровья. – 2019. – № 1. – С. 19–27.
2. Кучма, В. Р. Риск здоровью обучающихся в современной российской школе / В. Р. Кучма // Вопросы школьной и университетской медицины и здоровья. – 2018. – № 4. – С. 11–19.
3. Кучма, В. Р. Медико-профилактические основы безопасной жизнедеятельности детей в гиперинформационном обществе / В. Р. Кучма, Л. М. Сухарева, П. И. Храмцов // Российский педиатрический журнал. – 2017. – Т. 20, № 3. – С. 161–165.
4. Кучма, В. Р. Поведение детей, опасное для здоровья: современные тренды и формирование здорового образа жизни : [моногр.] / В. Р. Кучма, С. Б. Соколова ; Рос. акад. наук [и др.]. – М. : ФГБНУ НЦЗД, 2014. – 155 с.
5. Гончарова, Д. Г. Самооценка состояния здоровья и образа жизни как основа формирования представлений школьников о здоровьесбережении / Д. Г. Гончарова, А. И. Соколова, Л. В. Изотова // Российский вестник гигиены. – 2023. – № 1. – С. 4–8.
6. Сухарев, А. Г. Роль школы в формировании здорового образа жизни обучающихся / А. Г. Сухарев, Л. Ф. Игнатова, В. В. Стан // Санитарно-эпидемиологическое благополучие обучающихся в образовательных организациях: проблемы, пути решения и технологии обеспечения : материалы Всерос. конф. с международным участием, Москва, 24–25 нояб. 2015 г. – [Опубл. в журн.] Вопросы школьной и университетской медицины и здоровья. – 2015. – № 4. – С. 56–57.
7. Сухарев, А. Г. Методика оценки образа жизни школьников / А. Г. Сухарев, Л. Ф. Игнатова, В. В. Стан // Вопросы школьной и университетской медицины и здоровья. – 2015. – № 3. – С. 13–16.
8. Основы формирования здоровья детей : учеб. / Л. А. Жданова, С. И. Мандров, И. Е. Бобошко [и др.] ; под ред. Л. А. Ждановой. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2017. – 412 с.
9. Гузик, Е. О. Здоровье учащихся Республики Беларусь и пути минимизации факторов риска его формирующих : [моногр.] / Е. О. Гузик ; Белорус. мед. акад. последиплом. образования. – Минск : БелМАПО, 2020. – 334 с.
10. Образ жизни и здоровье сельских школьников (по результатам социально-педагогического исследования «Здоровье и поведение учащихся, проживающих на селе»): коллектив. моногр. / Рос. акад. образования ; под ред. А. Г. Комкова, М. П. Гурьяновой, П. И. Храмцова. – М. : ИСП РАО, 2010. – 241 с.

Khramtsov P. I.^{1,2,3}, Razova E. V.^{2,3}, Antonova E. V.¹, Khramtsova S. N.²
**THE ROLE OF PARTICIPANTS OF THE HEALTH-SAVING PROCESS
IN HEALTH FORMATION OF STUDENTS**

¹ *National Medical Research Center for Children's Health of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia*

² *State University of Education of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Moscow, Russia*

³ *National Association of Physical Education Teachers, Moscow, Russia*

The formation of children's health is a complex multicomponent process that unites the efforts of all subjects of the health-saving process. The purpose of the study is to assess the opinion of students about their own role and the role of parents, doctors and teachers in maintaining their health. During the online survey 60 823 students of grades 5–9 from 28 regions of the country noted one of the answers to the question "Who

do you think should take care of your health?": yourself, parents, doctors, teachers. It was found that 71.3 % of respondents believe that they should take care of their health themselves, 19.7 % – parents, 8.1 % – doctors and 0.9 % – teachers. The number of children who take responsibility for their health themselves increases with age: 58.6 % of boys and 55.5 % of girls in 5th grades, 77.5 % ($p < 0.05$) and 80.8 % ($p < 0.05$) in 9th grades, respectively. No more than 10 % of respondents assign the main role in shaping their health to doctors, and no more than 1.5 % to teachers. Thus, students underestimate the role of doctors and teachers in maintaining and strengthening their health. It is necessary to introduce modern health-saving technologies for children in educational institutions.

Keywords: participants of the health-saving process, students of grades 5–9, online questionnaire.

References

1. Rapoport I. K., Suhareva L. M. Eleven-year longitudinal observation: the prevalence and course of functional disorders and chronic diseases among Moscow schoolchildren. *Probl Sch Univ Med Health*. 2019; (1): 19–27. (in Russian)
2. Kuchma V. R. Risk to the health of students in Russian schools. *Probl Sch Univ Med Health*. 2018; (4): 11–9. (in Russian)
3. Kuchma V. R., Suhareva L. M., Khramtsov P. I. Medical and preventive basics of the safe life of children in the hyper-information society. *Russ Pediatr J*. 2017; 20(3): 161–5. (in Russian)
4. Kuchma V. R., Sokolova S. B. The behavior of children dangerous to health: modern trends and the formation of a healthy lifestyle. Moscow: FGBNU NCZD; 2014. (in Russian)
5. Goncharova D. G., Sokolova A. I., Izotova L. V. Self-assessment of health and lifestyle as the basis for understanding health preservation by schoolchildren. *Rus Bull Hyg*. 2023; (1): 4–8. (in Russian)
6. Sukharev A. G., Ignatova L. F., Stan V. V. Role of school in formation of a healthy lifestyle of students. In: *Sanitarno-epidemiologicheskoe blagopoluchie obuchayushchihya v obrazovatel'nyh organizatsiyah: problemy, puti resheniya i tekhnologii obespecheniya (Sanitary and epidemiological well-being of students in educational institutions: problems, solutions and technologies for ensuring): materialy Vseros. konf. s mezhdunar. uchastiem*. Publ.: *Probl Sch Univ Med and Health*. 2015; (4): 56–7. (in Russian)
7. Sukharev A. G., Ignatova L. F., Stan V. V. Method of assessment of student's lifestyle. *Probl Sch Univ Med Health*. 2015; (3): 13–6. (in Russian)
8. Zhdanova L. A., Mandrov S. I., Boboshko I. E. et al. Fundamentals of children's health development. Moscow: GEOTAR-Media; 2017. (in Russian)
9. Guzik E. O. Health of students of the Republic of Belarus and ways to minimize risk factors that form it. Minsk: BelMAPO; 2020. (in Russian)
10. Komkov A. G., Guryanova M. P., Khramtsov P. I. eds. Lifestyle and health of rural schoolchildren (based on the results of the socio-pedagogical study «Health and behavior of students living in rural areas»). Moscow: ISP RAO; 2010. (in Russian)

e-mail для переписки: pikhramtsov@gmail.com

Поступила 09.10.2024

Раздел 4

ГИГИЕНА ПИТАНИЯ

УДК 613.2:546.15

Величко О. О., Федоренко Е. В., Цемборевич Н. В., Коломиец Н. Д.¹, Мохорт Т. В.¹

ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ЙОДА В ОТДЕЛЬНЫХ ВИДАХ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ

*Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии
и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь*

*¹ Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»
г. Минск, Республика Беларусь*

Аннотация. С учетом биогеохимического статуса почв Республики Беларусь йод является критически важным микронутриентом. Изучение химического состава отдельных видов пищевой продукции с учетом различной степени агрегации проб является одним из этапов оценки репрезентативных рационов. Изучено содержание йода в 128 образцах пищевой продукции. Средний уровень обсуждаемого микронутриента в хлебобулочных изделиях составлял 23,09–25,56 мкг / 100 г, в колбасных изделиях и сыре – 41,83 и 14,21 мкг / 100 г соответственно. Необходима оценка поступления йода с рационами в целом, определение вклада отдельных групп пищевых продуктов в формирование обеспеченности указанным микронутриентом среди различных групп взрослого населения.

Ключевые слова: пищевые продукты, йод, эссенциальные микронутриенты, репрезентативные рационы.

Введение. Пищевые продукты являются основным источником ряда эссенциальных микронутриентов. Их недостаток в рационе способствует развитию патологических состояний и заболеваний, характер, тяжесть и распространенность которых зависит от их биологических функций, количества и соотношения эссенциальных веществ в рационе, нутриентного статуса организма.

Дефициты и дисбалансы микронутриентов рассматриваются Всемирной организацией здравоохранения состояниями, характеризующими неполноценное питание [1], поэтому всестороннее изучение условий и причин, к ним приводящим, является важной составляющей обоснования целенаправленных профилактических мероприятий.

Природный дефицит йода в почве и ассоциированная с ним высокая распространенность йоддефицитных заболеваний (далее – ЙДЗ) на территории нашей страны является предметом научных исследований [2, 3]. Результаты пространственного анализа эколого-геохимической обстановки Республики Беларусь, проведенного С. Л. Романовым и соавт. в 2018 году, позволили получить новые данные, подтверждающие наличие практически повсеместного, но различного по уровню дефицита обсуждаемого химического элемента в различных видах почв [4]. Эффективность и устойчивость национальных результатов профилактики йоддефицита достигнута благодаря реализации законодательных мер, включающих обязательное использование йодированной соли при производстве пищевых продуктов промышленного производства, ее применения в питании организованных коллективов, эффективных диагностики и лечения, гигиенического мониторинга использования и наличия йодированной соли в розничной торговле [5, 6].

Для принятия обоснованных мер по профилактике ЙДЗ целесообразным является проведение мониторинга содержания йода в репрезентативных рационах, которые представляют собой гомогенную смесь пищевых продуктов и блюд, качественная и количественная характеристика которой максимально соответствует типичной структуре суточного потребления в изучаемой группе населения, полученной с использованием расчетных методов, с учетом потерь и превращений химических веществ, происходящих в процессе реальной кулинарной обработки, используемой питьевой воды. Методы гигиенической оценки химического состава репрезентативных рационов включают скрининговую и углубленную оценку. Определение содержания химических элементов в отдельных и в определенной степени агрегированных (объединенных) пробах пищевой продукции является одним

из этапов указанной методологии. Поэтому изучение содержания йода в отдельных пищевых продуктах, изготовленных с использованием йодированной соли, как продолжение реализации системной национальной стратегии ликвидации ЙДЗ, является важной гигиенической задачей.

Цель работы – провести гигиеническую оценку содержания йода в отдельных видах пищевой продукции.

Материалы и методы. Объектом исследования являлись пищевые продукты, отобранные на территории различных регионов Республики Беларусь.

Содержание йода в пищевой продукции определялось роданидно-нитритным методом, в основе которого лежит концентрирование йодид-иона путем озоления навески пробы, растворение золы водой, образование комплексного соединения йода с роданидом железа с последующим его фотометрированием. Диапазон определяемых концентраций 2,0–150,0 мкг / 100 г, максимальное значение расширенной неопределенности U ($k = 2$) составляет 18,6 % [7]. Обсуждаемый микроэлемент определен в 128 образцах пищевой продукции из различных групп.

Статистическая обработка осуществлялась с использованием лицензионного программного обеспечения Microsoft Excel 2021 и Statistica 12. Оценка соответствия полученных данных нормальному распределению проводилась с использованием критериев W теста Шапиро – Уилка и Колмогорова – Смирнова с поправкой Лиллефорса. Во всех вариационных рядах распределение данных считалось отличным от нормального (непараметрическим) при уровне значимости $p < 0,05$. Поэтому для дальнейшей оценки результатов определяли медиану (далее – Me), интерквартильный размах [далее – 25; 75] и 95-й процентиль (далее – 95P).

Результаты и их обсуждение. Результаты содержания йода в отдельных видах пищевой продукции представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Содержание йода в отдельных видах пищевых продуктов, мкг / 100 г

Вид пищевой продукции	Количество образцов	Min–Max	Me [25; 75]	95P
Хлеб черный	40	14,16–34,01	25,56 [18,78; 28,20]	31,72
Хлеб белый	20	14,77–34,91	23,09 [18,74; 25,80]	33,41
Колбасные изделия	48	21,79–60,38	41,83 [35,53; 49,20]	58,1
Сыр	20	9,28–23,51	14,21 [10,78; 17,85]	21,74

Согласно полученным данным значимым источником поступления йода с рационами являются колбасные изделия, при этом содержание указанного микронутриента в обсуждаемом виде пищевой продукции показало значительную вариабельность в зависимости от региона изготовления.

Максимальные уровни содержания йода выявлены в колбасном изделии вареном (60,38 мкг / 100 г), изготовленном в Крупском районе Минской области, минимальные – (9,28 мкг / 100 г) в сыре с массовой долей жира 45 %, произведенном в Витебской области.

Указанное может быть обусловлено как содержанием йодированной соли в рецептурах продукции, так и биогеохимическими особенностями содержания йода в почвах различных регионов.

При ранжировании пищевых продуктов по содержанию йода установлено, что наибольшее среднее содержание йода обнаружено в исследуемых образцах колбасных изделий 41,83 [35,53; 49,20] мкг / 100 г, наименьшее – в сырах 14,21 [10,78; 17,85] мкг / 100 г.

В хлебе черном обсуждаемого микронутриента выявлено несколько больше, чем в хлебе белом (25,56 мкг / 100 г и 23,09 мкг / 100 г соответственно).

При сравнении указанных данных с ранее полученными, установлено, что медианные концентрации йода в хлебобулочных изделиях снизились по сравнению с данными 2018–2019 гг. – в ранее проведенных исследованиях уровень обсуждаемого микроэлемента в хлебобулочных изделиях достигал до $(42,0 \pm 1,5)$ мкг / 100 г. Фактически установленная концентрация йода в колбасных изделиях также ниже, по сравнению с расчетным значением, полученным на основе рецептур, составляющим 133,3 мкг / 100 г. Содержание йода в сыре было ниже по сравнению с ранее полученными данными для иных молочных продуктов – $(20,72 \pm 0,16)$ мкг / 100 г [8, 9]. Низкий уровень йода в молочных продуктах

ассоциирован с биогеохимическими свойствами почв республики, неиспользованием йодсодержащих кормов у продуктивных животных, а также йодированной соли при производстве сыра.

Заключение. Результаты гигиенической оценки свидетельствуют о снижении содержания йода в основных пищевых продуктах, изготавливаемых с использованием йодированной соли – его содержание составляло в хлебулочные изделиях 23,09–25,56 мкг / 100 г, в колбасных изделиях и сыре – 41,83 и 14,21 мкг / 100 г соответственно по сравнению с ранее проведенными исследованиями. Указанные различия могут быть связаны с изменениями рецептур пищевых продуктов массового потребления, в том числе за счет снижения содержания в них соли. Полученные данные наряду с оценкой общего уровня обсуждаемого микронутриента в репрезентативных рационах различных групп населения будут использованы для определения вклада изученных групп пищевых продуктов в общее поступление йода и последующей гигиенической оценки обеспеченности обсуждаемым микронутриентом. Указанное позволит получить дополнительные данные об эффективности реализации национальной стратегии ЙДЗ.

Сведения о НИР. НИР «Разработать и внедрить методы гигиенической оценки рационов» подпрограммы «Безопасность среды обитания человека» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг» на 2021–2025 гг., регистрационный номер 20221621.

Литература

1. Неполноценное питание // Всемирная организация здравоохранения. – URL: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/malnutrition> (дата обращения: 20.09.2024).

2. Йод в почвах и картофеле личных подсобных хозяйств Брянской и Гомельской областей, расположенных в зоне воздействия аварии на ЧАЭС / Е. М. Коробова, В. Ю. Березкин, Н. В. Корсакова [и др.] // Почвоведение. – 2019. – № 10. – С. 1234–1242.

3. Яблонская, И. В. Эколого-гигиеническая характеристика геоландшафта и йодная обеспеченность населения Гомельской области / И. В. Яблонская, В. Н. Бортновский // Актуальные проблемы щитовидной железы : материалы науч.-практ. конф. «Международное сотрудничество в области изучения патологии щитовидной железы», г. Гомель, 25 нояб. 2005 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Респ. науч.-практ. центр радиац. медицины и экологии человека ; под ред. Э. К. Капитоновой, Н. Г. Кручинского, Е. Я. Сосновской. – Гомель, 2005. – С. 178–183.

4. Особенности проявления йододефицита на территории Республики Беларусь / С. Л. Романов, А. Н. Червань, Е. М. Коробова [и др.] // Доклады Национальной академии наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 6. – С. 739–749.

5. Оценка йодной обеспеченности населения в Республике Беларусь: 20 лет прогресса / Т. В. Мохорт, Н. Д. Коломиец, С. В. Петренко [и др.] // Здравоохранение. – 2019. – № 9. – С. 31–41.

6. Динамический мониторинг йодной обеспеченности в Беларуси: результаты и проблемы / Т. В. Мохорт, Н. Д. Коломиец, С. В. Петренко [и др.] // Проблемы эндокринологии. – 2018. – Т. 64, № 3. – С. 170–179.

7. Методические указания по определению йода в продуктах питания и крови роданидно-нитритным методом № 8-9702. – Минск, 1997. – 10 с.

8. Гигиеническая оценка содержания йода в пищевой продукции в Республике Беларусь / Е. В. Федоренко, О. В. Шуляковская, С. И. Войтенко [и др.] // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены ; редкол.: С. И. Сычик (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2016. – Вып. 26. – С. 159–162.

9. К вопросу интеграции программ ликвидации йододефицита и снижения потребления соли / Е. В. Федоренко, Н. Д. Коломиец, Т. В. Мохорт [и др.] // Вопросы питания. – 2022. – Т. 91, № 3. – С. 53–63.

Velichko O. O., Fedorenko E. V., Tsemborevitch N. V., Kolomiets N. D.¹, Mokhort T. V.¹

HYGIENIC ASSESSMENT OF IODINE AND SELENIUM CONTENT IN CERTAIN TYPES OF FOOD PRODUCTS

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

¹ Educational institution «Belarusian State Medical University», Minsk, Belarus

Taking into account the biogeochemical status of soils in the Republic of Belarus iodine is a critically important micronutrient. The study of the chemical composition of certain types of food products taking into account different degrees of sample aggregation is one of the stages of evaluation of representative diets.

The iodine content in 128 samples of food products has been studied. The average level of the micronutrient under discussion in bakery products was 23.09–25.56 µg / 100 g, in sausages and cheese – 41.83 and 14.21 µg / 100 g respectively. It is necessary to assess iodine intake with diets as a whole, to determine the contribution of individual groups of food products in the formation of provision with this micronutrient among different groups of the adult population.

Keywords: food products, iodine, essential micronutrients, representative diets.

References

1. Malnutrition. In: World Health Organization. Available at: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/malnutrition> (accessed 20 September 2024). (in Russian)
2. Korobova E. M., Berezkin V. U., Korsakova N. V. et al. Iodine in soils and potatoes produced in private farms of Bryansk and Gomel regions located in the impact zone of the Chernobyl accident. *Pochvovedenie*. 2019; 10: 1234–42. (in Russian)
3. Yablonskaya I. V., Bortnovsky V. N. Ecological-hygienic characteristics of geo-landscape and iodine provision of the population of Gomel region. In: Kapitonovoj E. K., Kruchinskogo N. G., Sosnovskoj E. Ya., eds. *Aktual'nye problemy shchitovidnoj zhelezy* (Actual problems of thyroid gland): Materialy nauch.-prakt. konf. «Mezhdunarodnoe sotrudnichestvo v oblasti izucheniya patologii shchitovidnoj zheleza», g. Gomel', 25 noyab. 2005 g. Gomel; 2005: 178–83. (in Russian)
4. Romanov S. L., Chervan A. N., Korobova E. M. et al. Features of iodine deficiency in the territory of the Republic of Belarus. *Dokl Natl Acad Sci Belarus*. 2018; 62(6): 739–49. (in Russian)
5. Mokhort T. V., Kolomiets N. D., Petrenko S. V. et al. Evaluation of iodine sufficiency of Belarus population: 20 years of success. *Healthcare*. 2019; 9: 31–41. (in Russian)
6. Mokhort T. V., Kolomiets N. D., Petrenko S. V. et al. Dynamic monitoring of iodine sufficiency in Belarus: results and problems. *Probl Endocrinology*. 2018; 64(3): 170–9. (in Russian)
7. Methodical instructions for determination of iodine in food and blood by the rhodanide-nitrite method № 8-9702. Minsk; 1997. (in Russian)
8. Fedorenko E. V., Shulyakovskaya O. V., Vojtenko S. I. et al. Hygienic assessment of iodine content in food products in Republic of Belarus. In: Sychik S. I., chief ed. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda* (Health and environment): Collection of scientific papers of the Scientific Practical Centre of Hygiene. Iss. 26. Minsk; 2016: 159–162. (in Russian)
9. Fedorenko E. V., Kolomiets N. D., Mokhort T. V. et al. On integration of the iodine deficiency elimination and salt reduction programs. *Probl Nutr*. 2022; 91(3): 53–63. (in Russian)

e-mail для переписки: velichkoolgao@mail.ru

Поступила 17.10.2024

УДК 613.2(470.341)

Лаврентьева С. М., Семисынов С. О., Позднякова М. А.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПИЩЕВЫХ ПРИВЫЧЕК ВЗРОСЛОГО НАСЕЛЕНИЯ НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ ПО ДАННЫМ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА

Федеральное бюджетное учреждение науки «Нижегородский научно-исследовательский институт гигиены и профпатологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, г. Нижний Новгород, Россия

Аннотация. Статья посвящена изучению пищевых привычек населения Нижегородской области в возрасте от 25 до 64 лет методом эпидемиологического мониторинга. Оценивалось потребление поваренной соли, сахара и необходимого количества фруктов и овощей. Путем опроса было выявлено, что характер питания респондентов варьируется в зависимости от места жительства и уровня образования.

Ключевые слова: эпидемиологический мониторинг, факторы риска, питание, пищевые привычки.

Введение. В настоящее время в Российской Федерации реализуется федеральный проект «Укрепление общественного здоровья», являющийся частью национального проекта «Демография»,

основополагающая цель которого определяется как формирование среды, способствующей ведению гражданами здорового образа жизни, включая здоровое питание [1].

По определению Всемирной организации здравоохранения (далее – ВОЗ), здоровый образ жизни – это современное поведение и особое мышление человека, способствующее охране и укреплению здоровья; индивидуальная система привычек, дающая человеку необходимый уровень жизнедеятельности для решения задач, связанных с выполнением обязанностей и решением личных проблем и запросов; система жизни, обеспечивающая достаточный и оптимальный обмен человека со средой и тем самым позволяющая сохранить здоровье на безопасном уровне [2, 3].

Одним из ведущих факторов, влияющих на состояние здоровья населения, является рациональное питание, обеспечивающее нормальную жизнедеятельность организма, высокий уровень работоспособности и сопротивляемости воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды, а также максимальную продолжительность активной жизни [2, 4].

Цель работы: изучить пищевые привычки взрослого населения Нижегородской области в разрезе места жительства и уровня образования для возможности последующего использования полученных данных при разработке профилактических программ.

Материалы и методы. Объектом исследования явились лица в возрасте от 25 до 64 лет (трудоспособное население), проживающие в Нижегородской области. Объем выборки составил 2928 человек. Из числа обследованных 42,8 % проживали в городе, а 57,2 % – в сельской местности. Средний возраст респондентов составил ($44,6 \pm 0,2$) года (жителей Нижнего Новгорода – ($44,2 \pm 0,3$) года, сельских жителей – ($44,9 \pm 0,3$) года). Статистическое исследование проводилось в форме опроса с использованием специально разработанных и утвержденных приказами Министерства здравоохранения Нижегородской области опросников.

Результаты и их обсуждение. Избыточное потребление соли является насущной проблемой общественного здравоохранения во всем мире, поскольку оно имеет негативные последствия и приводит к хроническим неинфекционным заболеваниям (далее – ХНИЗ).

Согласно данным ВОЗ большинство людей превышает рекомендуемую норму потребления соли в два раза [5].

В ходе нашего исследования было установлено, что ($59,6 \pm 0,9$) % респондентов не досаливают пищу, ($34,9 \pm 0,9$) % досаливают, предварительно пробуя, и лишь ($5,5 \pm 0,4$) % опрошенных досаливают пищу, не пробуя.

Доля лиц, не досаливавших пищу, отличалась в зависимости от уровня образования. Так, если среди респондентов с неполным средним образованием данный показатель составлял ($47,8 \pm 3,7$) %, то с полным средним – ($59,9 \pm 1,2$) %, а с высшим – ($61,1 \pm 1,5$) % (таблица 1).

Таблица 1 – Отношение респондентов к досаливанию в зависимости от уровня образования, в %

Вариант ответа	Уровень образования		
	высшее	полное среднее	неполное среднее
«Не досаливают»	$61,1 \pm 1,5$	$59,9 \pm 1,2$	$47,8 \pm 3,7$
«Досаливают, предварительно пробуя»	$33,7 \pm 1,4$	$34,9 \pm 1,2$	$42,1 \pm 3,7$
«Досаливают, не пробуя»	$5,2 \pm 0,7$	$5,2 \pm 0,6$	$10,1 \pm 2,3$
Всего	100,0	100,0	100,0

($58,1 \pm 1,2$) % сельских жителей Нижегородской области на момент проведения исследования не досаливали пищу, ($37,0 \pm 1,2$) % досаливали, предварительно пробуя, ($4,9 \pm 0,5$) % досаливали, не пробуя.

Среди городского населения Нижегородской области распределение ответов было схожим: ($61,8 \pm 1,4$) % не досаливали пищу, ($32,1 \pm 1,7$) % досаливали, предварительно пробуя, досаливали, не пробуя ($6,1 \pm 0,7$) %.

При анализе распространенности пищевой привычки досаливать пищу в зависимости от уровня образования было выявлено, что наибольший процент тех, кто выбрал третий вариант ответа – «Досаливаю, не пробуя», наблюдается среди группы с неполным средним образованием. Наименьший процент зафиксирован у лиц с высшим образованием, проживающих в сельской местности, а также среди лиц, имеющих полное среднее образование, живущих в городе (таблица 2).

Таблица 2 – Отношение респондентов к досаливанию в зависимости от места проживания и уровня образования, в %

Вариант ответа	Город			Сельская местность		
	уровень образования					
	высшее	полное среднее	неполное среднее	высшее	полное среднее	неполное среднее
«Не досаливают»	62,0 ± 2,1	62,9 ± 1,9*	46,8 ± 6,3	60,2 ± 2,1	57,9 ± 1,6	48,3 ± 4,6
«Досаливают, предварительно пробуя»	31,6 ± 1,9	31,2 ± 1,8	45,2 ± 6,3	35,7 ± 2,0	37,4 ± 1,5	40,5 ± 4,6
«Досаливают, не пробуя»	6,4 ± 1,0	5,9 ± 0,9	8,0 ± 3,4	4,1 ± 0,8	4,7 ± 0,7	11,2 ± 2,9
Всего	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

* достоверные различия при $p \leq 0,005$.

Фрукты и овощи богаты биологически активными веществами, включая микроэлементы, и играют важную роль в профилактике ХНИЗ [6]. Из числа опрошенных около половины ($45,6 \pm 0,9$) % употребляли в течение дня необходимое количество данных продуктов (не менее 400 г).

Доля респондентов, которые в течение дня потребляли необходимое количество продуктов, варьировалась в зависимости от уровня образования: с неполным средним образованием – ($45,5 \pm 3,7$) %, с полным средним образованием – ($42,7 \pm 1,2$) %, с высшим – ($50,1 \pm 1,5$) %.

Сельские жители в ($43,0 \pm 1,9$) % случаев употребляли необходимое количество фруктов и овощей в течение дня, тогда как среди городского населения доля таких лиц составила ($48,9 \pm 1,4$) %.

Доли положительных ответов жителей сельской местности с разным уровнем образования были близки к среднему значению по выборке ($41,4 \pm 4,6$) % – среди людей с неполным средним образованием, ($42,2 \pm 1,6$) % – с полным средним образованием и ($45,2 \pm 2,1$) % – с высшим образованием).

В то же время среди городских жителей значительно реже употребляли необходимое количество фруктов и овощей лица с полным средним образованием ($44,5 \pm 1,9$) %, тогда как положительный ответ в ($55,1 \pm 2,1$) % давали респонденты с высшим образованием, ($53,2 \pm 6,3$) % – лица с неполным средним образованием.

По нашим данным, треть респондентов ($35,2 \pm 0,9$) % подтверждали, что употребляли сладости свыше рекомендуемой нормы. Избыточное потребление сахара, а также варенья, меда и других сладостей (более шести чайных ложек в сутки) является одним из факторов развития сахарного диабета 2 типа. ВОЗ рекомендует ограничивать долю свободных сахаров до 10 % от общей калорийности рациона [7].

Из числа респондентов, употреблявших в течение дня сладости свыше шести чайных ложек в сутки, в зависимости от уровня образования, выявлено, что с неполным средним образованием их количество составило ($37,6 \pm 3,6$) %, с полным средним образованием – ($34,9 \pm 1,2$) %, с высшим – ($35,7 \pm 1,4$) %.

На момент проведения исследования положительный ответ дали ($37,8 \pm 1,2$) % респондентов, проживающих в сельской местности, тогда как среди городского населения доля ответивших положительно была достоверно ниже ($31,7 \pm 1,3$) %, $p \leq 0,001$.

Среди жителей города отмечалась обратная тенденция: ($29,0 \pm 5,8$) % – лица с неполным средним образованием, ($30,6 \pm 1,8$) % – с полным средним образованием, а ($34,1 \pm 2,0$) % – с высшим образованием (таблица 3).

Таблица 3 – Количество употребления сахара в зависимости от места проживания и уровня образования, в %

Вариант ответа	Город			Сельская местность		
	уровень образования					
	высшее	полное среднее	неполное среднее	высшее	полное среднее	неполное среднее
Употребляют сладости свыше шести ложек сахара	34,1 ± 2,0	30,6 ± 1,8	29,0 ± 5,8	37,1 ± 2,0*	37,6 ± 1,5*	42,2 ± 4,6
Не употребляют сладости свыше шести ложек сахара	65,9 ± 2,0	69,4 ± 1,8	71,0 ± 5,8	62,9 ± 2,0	62,4 ± 2,0	57,8 ± 4,6
Всего	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

* достоверные различия при $p \leq 0,001$.

В сельской местности прослеживалась небольшая тенденция к сокращению количества потребления сахара в зависимости от уровня образования: $(42,2 \pm 4,6)$ % – лица с неполным средним образованием, $(37,6 \pm 1,5)$ % – с полным средним образованием, $(37,1 \pm 2,0)$ % – с высшим образованием.

Заключение. Таким образом, проведенное исследование показало, что большая часть населения Нижегородской области ($(59,6 \pm 0,9)$ %) не досаливала пищу, в том числе среди сельского населения – $(58,1 \pm 1,2)$ %, среди городского – $(61,8 \pm 1,4)$ %. Среди лиц, не досаливающих пищу перед употреблением, наибольшая доля приходится на лиц с высшим образованием – $(61,1 \pm 1,5)$ %.

Опрос показал, что $(45,6 \pm 0,9)$ % респондентов употребляли необходимое количество (400 г) фруктов и овощей в день. В сельских районах $(43,0 \pm 1,9)$ % респондентов употребляли 400 г фруктов и овощей, а в городских – $(48,9 \pm 1,4)$ %. Уровень образования влияет на потребление: среди лиц с высшим образованием этот показатель составляет $(50,1 \pm 1,5)$ %.

Треть респондентов ($(35,2 \pm 0,9)$ %) подтверждали потребление сладостей свыше шести чайных ложек в сутки. В сельских районах этот показатель составляет $(37,8 \pm 1,2)$ %, в городских – $(31,7 \pm 1,3)$ %. Уровень образования также оказывает влияние: среди людей с неполным средним образованием $(37,6 \pm 3,6)$ % превышают норму по сладостям.

Литература

1. Федеральный проект «Укрепление общественного здоровья» // Министерство здравоохранения Российской Федерации. – URL: <https://minzdrav.gov.ru/poleznye-resursy/natsproektzdravoohranenie/zozh> (дата обращения: 24.09.2024).

2. Рогалева, А. В. Рациональное питание как важная составляющая здорового образа жизни / А. В. Рогалева // *Modern Science*. – 2021. – № 6–1. – С. 493–496.

3. A healthy lifestyle – WHO recommendations // WHO – URL: <https://www.who.int/europe/news-room/fact-sheets/item/a-healthy-lifestyle---who-recommendations> (дата обращения: 07.10.2024).

4. Щетинина, С. Ю. Рациональное питание как компонент здорового образа жизни / С. Ю. Щетинина // *Международный журнал гуманитарных и естественных наук*. – 2022. – № 5-1. – С. 288–295.

5. Bhaskar, S. M. M. Editorial: digital strategies to reduce salt consumption / S. M. M. Bhaskar // *Frontiers in Public Health*. – 2023. – Vol. 11. – DOI: 10.3389/fpubh.2023.1244216.

6. Oude Griep, L. M. Addressing the Complexity of Fruits and Vegetables in Nutritional Epidemiology / L. M. Oude Griep // *The Journal of Nutrition*. – 2023. – Vol. 153, № 7. – P. 1841–1842.

7. Guideline: Sugars intake for adults and children // WHO. – URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549028> (дата обращения: 07.10.2024).

Lavrentieva S. M., Pozdnyakova M. A., Semisynov S. O.

STUDY OF THE DIETARY HABITS OF THE ADULT POPULATION OF THE NIZHNY NOVGOROD REGION ACCORDING TO EPIDEMIOLOGIC MONITORING DATA

Federal Budgetary Science Institution «Nizhny Novgorod Research Institute of Hygiene and Occupational Pathology» of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Nizhny Novgorod, Russia

The article is devoted to the study of dietary habits of the population of Nizhny Novgorod region aged 25 to 64 years by the method of epidemiologic monitoring. The consumption of table salt, sugar and the required amount of fruits and vegetables was assessed. The survey revealed that the respondents' eating habits varied depending on their place of residence and level of education.

Keywords: epidemiologic monitoring, risk factors, nutrition, dietary habits.

References

1. Federal project «Strengthening public health». Ministry of Health of the Russian Federation. Available at: <https://minzdrav.gov.ru/poleznye-resursy/natsproektzdravoohranenie/zozh> (accessed 24 September 2024). (in Russian)

2. Rogaleva A. V. Rational nutrition as an important component of a healthy lifestyle. *Mod Sci*. 2021; 6-1: 493–6. (in Russian)

3. A healthy lifestyle – WHO recommendations. WHO. Available at: <https://www.who.int/europe/news-room/fact-sheets/item/a-healthy-lifestyle---who-recommendations> (accessed 07 October 2024)

4. Shchetinina S. Yu. Rational nutrition as a component of a healthy lifestyle. *Int J Humanit Nat Sci*. 2022; 5-1: 288–95. (in Russian)

5. Bhaskar S. M. M. Editorial: Digital strategies to reduce salt consumption. *Front Public Health*. 2023; 11. DOI: 10.3389/fpubh.2023.1244216.

6. Oude Griep L.M. Addressing the Complexity of Fruits and Vegetables in Nutritional Epidemiology. *J Nutr*. 2023; 153(7): 1841–2.

7. Guideline: Sugars intake for adults and children. WHO. Available at: <https://www.who.int/publications/item/9789241549028> (accessed 07 October 2024)

e-mail для переписки: lavrenteva041998@mail.ru

Поступила 07.10.2024

УДК 614.31:636/638"2023"(476)

Федоренко Е. В., Дроздова Е. В., Журихина Л. Н., Итнаева-Людчик С. Л., Бельшева Л. Л., Тимофеева О. Н.,
Крымская Т. П., Мачальская Е. С., Свинтилова Т. Н.

ИССЛЕДОВАНИЯ СОДЕРЖАНИЯ СТОЙКИХ ОРГАНИЧЕСКИХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ В ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ ЗА 2023 ГОД В РАМКАХ ПРОГРАММЫ ИХ МОНИТОРИНГА

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии
и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Проведены исследования 209 проб пищевой продукции на содержание стойких органических загрязнителей (хлорорганические пестициды, диоксины/фураны) за 2023 год по областям Республики Беларусь. Превышений установленных допустимых уровней стойких органических загрязнителей не обнаружено, однако имеются выявленные их остаточные количества в продуктах животного происхождения (рыба, мясо, яйца куриные, масло сливочное).

Ключевые слова: стойкие органические загрязнители, хлорорганические пестициды, диоксины/фураны, пищевые продукты.

Введение. Стойкие органические загрязнители (далее – СОЗ) – это химические вещества, медленно или абсолютно не разлагающиеся в естественных условиях [1]. К ним относится группа синтетических соединений, включая гексахлорциклогексан: α -, β -, γ -изомеры (далее – ГХЦГ) дихлордифенил-трихлорэтан (далее – ДДТ), альдрин, гептахлор, полихлордибензодиоксины и полихлордибензофураны (далее – диоксины/фураны), которые применялись в сельском хозяйстве в качестве пестицидов, использовались в промышленности или образуются самопроизвольно в качестве побочных продуктов сгорания или промышленных процессов. Токсичные свойства СОЗ крайне разнообразны, включают нейротоксические, мутагенные, канцерогенные эффекты, которые зависят от концентрации, длительности воздействия и пути попадания. Наряду с персистентностью СОЗ способны к биоаккумуляции, поэтому опасными признаны даже следовые их количества в объектах среды обитания.

Проблема негативного влияния СОЗ на здоровье населения и окружающую среду является одной из приоритетных экологических задач. Международные требования к обращению со СОЗ установлены Стокгольмской конвенцией, принятой 22 мая 2001 года, целью которой является охрана здоровья человека и окружающей среды [2].

Актуальность проблемы реализации обязательств Республики Беларусь в рамках данного международного соглашения состоит в том, что на территории нашей страны все еще остается определенное количество этих веществ. Согласно принятым и реализуемым программам относительно сокращения и полного прекращения использования СОЗ, к концу нынешнего десятилетия в Беларуси должны быть уничтожены все запасы непригодных пестицидов [3].

СОЗ способны к трансграничному переносу и загрязняют все составляющие среды обитания (воду, воздух, почву) [4]. С учетом биоаккумуляции алиментарный путь поступления является в настоящее время преобладающим. Поэтому оценка содержания отдельных СОЗ в пищевых продуктах, составляющих основу рациона населения Республики Беларусь, является актуальной.

В рамках мероприятия 62 «Проведение мониторинга содержания хлорорганических пестицидов, диоксинов и фуранов в продуктах питания и питьевой воде» подпрограммы 3 «Обращение со стойкими органическими загрязнителями» Государственной программы «Охрана окружающей среды и устойчивое использование природных ресурсов» на 2021–2025 годы, утвержденной постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 19 февраля 2021 г. № 99, обобщены и проанализированы ретроспективные данные по содержанию стойких органических загрязнителей (хлорорганические пестициды, полихлорированные бифенилы, диоксины/фураны) в пищевых продуктах и питьевой воде за период 2021–2022 гг. по областям Республики Беларусь [5]. Указанные результаты позволили обосновать программу целенаправленного мониторинга СОЗ в различных группах пищевой продукции (далее – Программа мониторинга) в период 2023 года.

Цель работы – провести исследования пищевой продукции на содержание стойких органических загрязнителей (хлорорганические пестициды, диоксины/фураны) по отдельным регионам Республики Беларусь.

Материалы и методы. В соответствии с Программой мониторинга для исследования на содержание СОЗ отобраны не менее 2 проб каждого пищевого продукта, включающие молочную продукцию (молоко, сыр, творог, масло сливочное), мясную (говядина, свинина, мясо птицы), яйца куриные, а также продукцию растительного происхождения (морковь, капуста, свекла, картофель) в разрезе административно-территориального деления Республики Беларусь. Рыбной продукции отобрано не менее чем по 5 проб из каждой области, что обусловлено наибольшим спектром и частотой выявления СОЗ по ретроспективным данным [5]; масла рапсового – не менее 5 проб из Минской области и 4 пробы из других областей Беларуси с учетом региона производства данной продукции.

Всего было отобрано 209 проб пищевых продуктов (далее – ПП) из всех регионов республики, из них: рыбы (аквакультуры) – 31 проба; продукции растительного происхождения – 52 пробы; масла рапсового – 9 проб; яиц куриных – 14 проб; молочной продукции – 63 пробы; мясной продукции – 25 проб; мясо птицы – 15 проб. В соответствии с Программой мониторинга содержание хлорорганических пестицидов (далее – ХОП): ГХЦГ, ДДТ, гептахлор, альдрин определяли во всех пробах, диоксинов – в 94 пробах (говядина, свинина, мясо птицы, яйца куриные, рыба (аквакультура), масло рапсовое).

ХОП определяли в ПП согласно ГОСТ EN 1528-1-2014 «Продукты пищевые с большим содержанием жира. Определение пестицидов и полихлорированных бифенилов (ПХБ). Часть 1 Общие положения»; ГОСТ EN 1528-2-2014 «Продукты пищевые с большим содержанием жира. Определение пестицидов и полихлорированных бифенилов (ПХБ). Часть 2 Экстракция жира, пестицидов, и ПХБ и определение содержания жира»; ГОСТ EN 1528-3-2014 «Продукты пищевые с большим содержанием жира. Определение пестицидов и полихлорированных бифенилов (ПХБ). Часть 3 Методы очистки»; ГОСТ EN 1528-4-2014 «Продукты пищевые с большим содержанием жира. Определение пестицидов и полихлорированных бифенилов (ПХБ). Часть 4 Определение, методы подтверждения, прочие положения». Метод основан на экстракции ХОП органическими растворителями из пищевой матрицы, очистке экстракта с последующим анализом полученных растворов на газовом хроматографе с масс-спектрометрическим детектором. Нижняя граница диапазона измерений для ХОП составляет: для масла рапсового и сливочного – 0,002 мг/кг, для другой пищевой продукции – 0,0005 мг/кг.

Диоксины/фураны определяли в ПП согласно ГОСТ 31792–2012 «Рыба, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Определение содержания диоксинов и диоксинподобных полихлорированных бифенилов хромато-масс-спектральным методом», Инструкции по применению № 216-1205 от 28.12.2005 «Определение полихлорированных дибензо-п-диоксинов и дибензофуранов в мясных, молочных, рыбных продуктах, а также в кормах методом хромато-масс-спектрометрии». Метод анализа включает экстракцию аналитов органическими растворителями; последовательную очистку экстракта с применением колоночной хроматографии на различных специально подготовленных сорбентах; концентрирование; количественный анализ методом хромато-масс-спектрометрии с использованием суррогатных изотопно-меченых стандартов – аналогов определяемых соединений, вводимых в пробу на стадии пробоподготовки. Пределы обнаружения полихлорированных дибензо-п-диоксинов и дибензофуранов составляют 0,00033–1,6667 нг/кг в зависимости от конкретного соединения.

Результаты и их обсуждение. Проведенный анализ лабораторных исследований показал, что из 209 исследованных проб ПП СОЗ обнаружены в 23 (11 % проб). Уровни содержания СОЗ в отдельных пробах ПП приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Пробы с обнаружением СОЗ по регионам Республики Беларусь в 2023 г.

Область	Наименование продукта	Показатель		
		ГХЦГ, мг/кг	ДДТ, мг/кг	Диоксины/фураны, нг/кг
РЫБА (АКВАКУЛЬТУРА)				
Брестская	Карп охлажденный потрошенный	н. о.	н. о.	0,025
	Карп отборный	н. о.	н. о.	0,013
	Карп охлажденный потрошенный с головой	н. о.	0,00095	н. о.
Витебская	Лещ	н. о.	0,0011	н. о.
	Плотва мелкая	н. о.	н. о.	0,011
	Щука	н. о.	н. о.	0,018
	Лещ крупный	н. о.	0,0007	н. о.
Гомельская	Толстолобик	н. о.	н. о.	0,015
Минская	Карп отборный	н. о.	н. о.	0,012
	Карась крупный	н. о.	0,00070	н. о.
ЯЙЦА КУРИНЫЕ				
Минская	Яйца куриные	н. о.	н. о.	0,135
	Яйца куриные	н. о.	н. о.	0,537
МАСЛО СЛИВОЧНОЕ				
Брестская	Масло сладкосливочное	н. о.	0,00250	–
	Масло сливочное солен.	н. о.	0,00277	–
Витебская	Масло сливочное	н. о.	0,00237	–
Гомельская	Масло сладкосливочное	н. о.	0,00200	–
Гродненская	Масло сладкосливочное	н. о.	0,00240	–
	Масло сладкосливочное	н. о.	0,00297	–
Могилевская	Масло сладкосливочное	н. о.	0,00224	–
Минская	Масло сладкосливочное	н. о.	0,00200	–
ГОВЯДИНА				
Могилевская	Полуфабрикат из говядины крупнокусков.	н. о.	0,00070	н. о.
Минская	Говядина охлажденная	0,0005	н. о.	н. о.
МЯСО ПТИЦЫ				
Брестская	Мясо птицы. Тушка кур потрошенная замороз.	н. о.	н. о.	0,672

Превышений допустимых уровней изучаемых соединений в исследованных пробах ПП в пределах чувствительности использованных методов в соответствии с Гигиеническим нормативом «Показатели безопасности и безвредности для человека продовольственного сырья и пищевых продуктов», утвержденным постановлением Совета Министров Республики Беларусь 25 января 2021 г. № 37, не установлено.

Гептахлор и альдрин в исследованных пробах ПП не обнаружены. ГХЦГ обнаружен в 1 пробе говядины из Минской области в количестве 0,0005 мг/кг при допустимом уровне не более 0,1 мг/кг.

ДДТ обнаруживался значительно чаще: в 13 пробах. Контаминация указанным пестицидом характерна для рыбы (аквакультура) из Брестской, Витебской и Минской областей – 4 пробы из 31 (13 %), количество обсуждаемого ХОП – от 0,0007 до 0,0011 мг/кг при нормативе не более 0,3 мг/кг, а также для масла сливочного из всех областей Республики Беларусь – 8 проб из 15 (53 %), диапазон выявленных концентраций: 0,002–0,00297 мг/кг (допустимый уровень не более 1,0 мг/кг). Обнаружение ХОП в исследованных образцах рыбы (аквакультура) может быть связано как с условиями ее выращивания, так и с качеством используемых кормов. Закономерно высокая частота выявления ДДТ в масле сливочном связана с биоаккумуляцией указанного пестицида, а также его липофильностью.

Диоксины/фураны обнаружены в 9 из 94 проб (10 %): в 6 пробах рыбы (аквакультуры) из Брестской, Витебской, Гомельской и Минской областей в количестве 0,011–0,025 нг/кг (при нормативе не более 0,000004 мг/кг = 4 нг/кг), 2 образцах яиц куриных из Минской области в количествах 0,135 и 0,537 нг/кг (при допустимом уровне 0,000003 мг/кг = 3 нг/кг), 1 образце мяса птицы из Брестской области в количестве 0,672 нг/кг (допустимый уровень не более 0,000002 мг/кг = 2 нг/кг).

Закключение. Полученные данные позволяют сделать вывод, что в целом ситуация по контаминации ПП СОЗ (ХОП, диоксинами/фуранами) благоприятная: частота их выявления составляет 11 %, количественное содержание указанных соединений в пробах не превышает нормируемые значения. Выявленные количества СОЗ характерны для продуктов животного происхождения (рыба, мясо, яйца куриные, масло сливочное), что может быть связано с условиями выращивания продуктивных животных и рыбы (аквакультура) и качеством их кормов.

Сведения о НИР. Работа «Провести исследования содержания хлорорганических пестицидов, диоксинов и фуранов в пищевой продукции и питьевой воде» в рамках мероприятия 62 «Проведение мониторинга содержания хлорорганических пестицидов, диоксинов и фуранов в продуктах питания и питьевой воде» подпрограммы 3 «Обращение со стойкими органическими загрязнителями» Государственной программы «Охрана окружающей среды и устойчивое использование природных ресурсов» на 2021–2025 годы.

Литература

1. Какарека, С. В. Стойкие органические загрязнители: источники и оценка выбросов / С. В. Какарека, Т. И. Кухарчик, В. С. Хомич. – Минск : Минсктиппроект, 2003. – 220 с.

2. Stockholm convention on persistent organic pollutants. – URL: https://chm.pops.int/Portals/0/Repository/convention_text/UNEP-POPS-COP-CONVTEXT-FULL.English.PDF. (дата обращения: 13.03.2023).

3. Дузинчук, В. Д. Реализация Стокгольмской конвенции по стойким органическим загрязнителям в Республике Беларусь / В. Д. Дузинчук, С. Е. Головатый // Сахаровские чтения 2022 года: экологические проблемы XXI века : материалы 22-й Междунар. науч. конф. 19–20 мая 2022 г., г. Минск : в 2 ч. / М-во образования Респ. Беларусь ; под общ. ред. С. А. Маскевича, М. Г. Герменчук. – Минск, 2022. – Ч. 2. – С. 285–288.

4. Jones, K. C. Persistent organic pollutants (pops) and related chemicals in the global environment: some personal reflections / K. C. Jones // *Environmental Science & Technology*. – 2021. – Vol. 55, № 14. – P. 9400–9412.

5. Мониторинг стойких органических загрязнителей в пищевых продуктах и питьевой воде в Республике Беларусь за период 2021–2022 гг. / Е. В. Федоренко, Е. В. Дроздова, И. В. Кондрескул [и др.] // Анализ риска здоровью – 2023. Совместно с международной встречей по окружающей среде и здоровью RISE-2023 : материалы XIII Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, Пермь, 17–19 мая 2023 г. : в 2 т. / Федер. служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Рос. акад. наук, секция проф. медицины отделения мед. наук ; под общ. ред. А. Ю. Поповой, Н. В. Зайцевой. – Пермь, 2023. – Т. 1. – С. 272–277.

Fedorenko E. V., Drazdova A. V., Zhurihina L. N., Itpaeva-Liudchyk S. L., Belysheva L. L., Timofeeva O. N., Krymskaya T. P., Machalskaya L. S., Svintsilava T. N.

RESEARCHES OF THE CONTENT OF PERSISTENT ORGANIC POLLUTANTS IN FOOD PRODUCTS IN THE REPUBLIC OF BELARUS IN 2023 AS PART OF MONITORING PROGRAM

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

Laboratory testing of 209 food samples for the content of persistent organic pollutants (organochlorine pesticides, dioxins/furans) for 2023 in the regions of the Republic of Belarus were conducted. No excess of the established permissible levels of persistent organic pollutants has been detected. However, the residual amounts of persistent organic pollutants in animal products (fish, meat, chicken eggs, butter) have been revealed.

Keywords: persistent organic pollutants, organochlorine pesticides, dioxins/furans, food.

References

1. Kakareka S. V., Kukharchik T. I., Khomich V. S. Persistent organic pollutants: sources and assessment of emissions. Minsk: Minsktipproekt; 2003. (in Russian)

2. Stockholm convention on persistent organic pollutants. Available at: https://chm.pops.int/Portals/0/Repository/convention_text/UNEP-POPS-COP-CONVTEXT-FULL.English.PDF (accessed 13 March 2023).

3. Duzinchuk V. D., Golovaty S. E. Implementation of the Stockholm convention on persistent organic pollutants in the Republic of Belarus. In: S. A. Maskevich, M. G. Hermenchuk ed. *Saharovskie chteniya 2022 goda: ekologicheskie problemy XXI veka (Sakharov readings 2022: environmental problems of the 21st century)*: Proceedings of the conference. Minsk; 2022. Vol. 2: 285–8. (in Russian)

4. Jones K. C. Persistent organic pollutants (pops) and related chemicals in the global environment: some personal reflections. *Environ Sci Technol*. 2021; 55(14): 9400–12.

5. Fedorenko E. V., Drozdova E. V., Kondreskul I. V. Monitoring of persistent organic pollutants in food and drinking water in the Republic of Belarus for the period 2021–2022. In: Popova A. Y., Zaitseva N. V. ed. Analiz riska zdorovyu – 2023. *Sovmestno s mejdunarodnoy vstrechey po okrujayuschey srede i zdorovyu RISE-2023 (Health Risk Analysis – 2023. Together with the international meeting on environment and health RISE-2023)*: Proceedings of the conference. Perm; 2023. Vol. 1: 272–7. (in Russian)

e-mail для переписки: lzurihina25@gmail.com

Поступила 09.10.2024

УДК 613.2:641.1:664.64.016

Цыганков В. Г., Федоренко Е. В., Бондарук А. М., Осипова Т. С., Журихина Л. Н., Свинтилова Т. Н.

ГИГИЕНИЧЕСКОЕ РАНЖИРОВАНИЕ ХЛЕБОБУЛОЧНЫХ ИЗДЕЛИЙ, ПРОИЗВЕДЕННЫХ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ И РЕКОМЕНДОВАННЫХ ДЛЯ ШКОЛЬНОГО ПИТАНИЯ

*Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии
и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь*

Аннотация. С помощью методологии ранжирования (профилирования) пищевых продуктов было проведено ранжирование отдельных видов хлебобулочных изделий на основании их пищевой ценности ингредиентного состава и потенциального воздействия на здоровье. Проведено отнесение их к более или менее предпочтительным при организации питания обучающихся в учреждениях общего среднего образования, в том числе реализации через буфеты, кафе и кафетерии.

Ключевые слова: неинфекционные заболевания, гигиеническое ранжирование (профилирование) пищевых продуктов, здоровое питание, хлебобулочные изделия.

Введение. Здоровый образ жизни является фундаментальным условием для гармоничного развития организма в процессе онтогенеза, а также на всех этапах детского возраста. Он обеспечивает надежную защиту от неблагоприятных условий труда и негативных факторов среды обитания, поддерживает высокий уровень умственной и физической активности, способствует творческой продуктивности и активному долголетию. основополагающим принципом здорового образа жизни является рациональное и сбалансированное питание, основы которого закладываются в детском возрасте. Гармоничное физическое и психическое развитие детей, профилактика распространения в среде обучающихся алиментарно-обусловленных неинфекционных заболеваний (далее – НИЗ) невозможны без соблюдения принципов здорового питания, которое не подразумевает строгих ограничений рациона или отказа от ряда пищевых продуктов. Речь идет о поддержании оптимального соотношения ключевых питательных веществ в рационе. Это способствует укреплению здоровья детей, повышению уровня энергии, развитию умственных способностей, позволяет снизить риск развития ряда хронических заболеваний, в том числе ожирения, диабета 2 типа, артериальной гипертензии и др.

НИЗ являются основной причиной преждевременной смертности и на их долю приходится более 70 % от общего числа смертей в мире [1]. Нерациональное, несбалансированное питание является важнейшим фактором риска распространения НИЗ в Европейском регионе, так как значительная доля населения потребляет избыточное количество богатых жирами, углеводами и натрием обработанных пищевых продуктов.

Учитывая это, Европейский план действий ВОЗ в области продовольствия и питания настоятельно рекомендует значительно ограничить потребление пищевых продуктов с высокой энергетической ценностью, высоким содержанием простых сахаров, соли и низким содержанием микроэлементов, так как нездоровое питание является главным фактором распространения среди населения сердечно-сосудистых заболеваний, диабета 2 типа, артериальной гипертензии, опухолей толстого кишечника и др. [2–7]. Венская декларация, принятая в 2013 году, предлагала разработать и внедрить общие научно обоснованные подходы к питанию населения, в том числе разработать методологию профилирования пищевых продуктов на основе их состава и пищевой ценности, позволяющую классифицировать пищевые продукты, а не рационы, и являющуюся элементом алиментарной профилактики НИЗ [8–10].

В 2023 году Европейское региональное бюро ВОЗ официально представило модель профиля питательных веществ для использования государствами-членами, которая была усовершенствована во 2 издании [11, 12]. Данная модель, а также методические подходы ряда стран, в частности Великобритании [13], были использованы для разработки и внедрения национальной методологии гигиенического ранжирования (профилирования) пищевых продуктов на основе анализа их пищевой ценности, состава и влияния на здоровье, учитывающей особенности питания в Республике Беларусь и имплементированной в Инструкции по применению № 032-1221 «Принципы гигиенического ранжирования пищевых продуктов на основе их состава и потенциального влияния на здоровье» (утв. заместителем Министра здравоохранения – Главным государственным санитарным врачом Республики Беларусь 11.05.2022) (далее – Инструкция) [14].

Продукты переработки зерновых, цельнозерновой хлеб и хлеб из ржаной муки, в частности, являются основой ежедневного рациона, с учетом национальных особенностей питания. Указанные продукты играют важную роль в поддержании нормального функционирования пищеварительной системы, микробиома кишечника, действуют как пребиотики, а также обеспечивают организм энергией за счет содержания в своем составе сложных углеводов и создают чувство насыщения [15, 16]. Помимо высокого содержания железа, клетчатки и витаминов группы В, в хлебе содержится большое количество белка, кальция, тиамина, марганца и цинка. Необходимо подчеркнуть, что в первую очередь это относится к ржаному и цельнозерновому хлебу. Но полностью исключать из рациона хлебобулочные изделия из пшеничной муки также нецелесообразно, так как они содержат достаточное количество белка и ряда аминокислот. Анализ мягкой пшеницы показал высокое содержание в ней белка и ряда аминокислот, в первую очередь незаменимых: лизина и триптофана, что свидетельствует о ее высокой пищевой ценности. При потреблении 500 г пшеничного хлеба из муки первого или высшего сортов в организм поступает от 21 до 64 % суточной потребности жизненно необходимых аминокислот [17]. Разумное употребление пшеничного хлеба приводит к снижению потребления сахаристых кондитерских изделий. Таким образом, гигиеническое ранжирование хлебобулочных изделий является актуальным в целях обеспечения учащихся рациональным сбалансированным питанием.

Цель работы – гигиеническое ранжирование (профилирование) отдельных видов хлебобулочных изделий для оценки предпочтительности их включения в рационы при организации питания обучающихся в учреждениях общего среднего образования, в том числе реализации через буфеты, кафе и кафетерии.

Материалы и методы. Было проведено гигиеническое профилирование (ранжирование) 6 образцов хлебобулочных изделий: № 1 (хлеб ржаной), № 2 (хлеб ржаной), № 3 (батон), № 4 (хлеб ржаной), № 5 (хлеб ржаной), № 6 (батон).

В таблице 1 представлены ингредиентные составы изученных хлебобулочных изделий в соответствии с рецептурами и технологическими инструкциями на пищевой продукт.

Таблица 1 – Ингредиентный состав хлебобулочных изделий

Наименование сырья	Хлебобулочное изделие, № образца					
	Расход сырья на 100 г готовой продукции, г					
	1	2	3	4	5	6
Мука ржаная хлебопекарная сеяная	52,70	14,97	–	2,77	–	–
Мука ржаная хлебопекарная обдирная	–	18,74	–	23,36	27,73	–
Мука пшеничная первого сорта	35,12	36,04	73,01	42,53	41,64	75,11
Глютен пшеничный	–	2,18	3,77	–	–	–
Солод ржаной сухой	–	2,93	–	2,06	–	–
Сахар белый	1,00	1,51	2,32	0,71	–	6,05
Масло подсолнечное рафинированное	–	1,51	3,10	–	–	3,03
Дрожжи хлебопекарные прессованные	0,50	0,38	1,16	0,30	0,21	1,51
Соль поваренная пищевая йодированная	0,30	0,50	0,50	0,21	0,21	0,23
Молоко сухое обезжиренное	–	–	0,77	–	–	–
Пюре картофельное сухое	–	–	–	–	0,7	–
Патока	–	–	–	–	0,7	–

В таблице 2 представлена пищевая ценность изученных хлебобулочных изделий.

Таблица 2 – Пищевая ценность хлебобулочных изделий

Пищевая ценность, г / 100 г	№ образца					
	1	2	3	4	5	6
Белки	5,9	8,37	10,7	7,02	6,91	8,14
Жиры	0,5	1,3	2,06	1,05	1,5	2,02
Углеводы	45,9	47,79	51,52	45,57	44,7	55,30
Энергетическая ценность, кДж/ккал	903/213	1008/238	1136/268	920/217	902/212	1155/272

В процессе исследования были использованы данные об ингредиентном составе, пищевой и энергетической ценности, представленные производителями. Ранжирование пищевых продуктов проводилось пороговым методом в соответствии с WHO Regional Office for Europe nutrient profile model. Second edition, 2023 (п. 21 Инструкции) и методом нутриентного сора (далее – НС) в соответствии с Инструкцией. Группы пищевых продуктов и пороговые значения нутриентов (ингредиентов), используемые при ранжировании, основанные на национальных особенностях питания в Республике Беларусь, приведены в приложении 3 к Инструкции [14].

Основные ассоциации «пищевой продукт – дисквалифицирующие и квалифицирующие факторы» приведены в приложении 1 к Инструкции [14].

НС рассчитывается путем вычитания из суммы баллов дисквалифицирующих факторов (далее – НС_А) суммы баллов квалифицирующих факторов (далее – НС_Б) по формуле (1):

$$НС = НС_{А} - НС_{Б} \quad (1)$$

Баллы для дисквалифицирующих алиментарных факторов (уровни энергии, насыщенных жиров, общих сахаров и натрия) приведены в таблице 1 Инструкции [14].

Расчет нутриентного сора для дисквалифицирующих факторов (НС_А) проводился по формуле (2):

$$НС_{А} = C_{э} + C_{нж} + C_{с} + C_{Na} \quad (2)$$

где $C_{э}$ – баллы для соответствующего уровня энергии;

$C_{нж}$ – баллы для соответствующего уровня содержания насыщенных жиров;

$C_{с}$ – баллы для соответствующего уровня содержания сахаров;

C_{Na} – баллы для соответствующего уровня содержания натрия.

Расчет нутриентного сора для квалифицирующих алиментарных факторов (НС_Б) проводился по формуле (3):

$$НС_{Б} = C_{фо} + C_{кл} + C_{б} \quad (3)$$

где $C_{фо}$ – баллы для соответствующего содержания овощей, фруктов или орехов;

$C_{кл}$ – баллы для соответствующего уровня сложных углеводов или пищевых волокон;

$C_{б}$ – баллы для соответствующего уровня содержания белков.

Баллы для квалифицирующих алиментарных факторов (уровней овощей, фруктов и орехов, а также клетчатки, пищевых волокон и белка) приведены в таблице 2 Инструкции [14].

В соответствии с Инструкцией, пищевой продукт считался более предпочтительным для включения в здоровые рационы и более предпочтительным для реализации через буфеты, кафе и кафетерии учреждений образования, если $НС_{А} < 4$.

Результаты и их обсуждение. Результаты гигиенического ранжирования пороговым методом представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты гигиенической оценки ингредиентного состава и пищевой ценности с использованием порогового метода

№	Наименование продукции	Энергетическая и пищевая ценность в 100 г продукта	Пороговые уровни, г / 100 г продукта [12]
1	Хлебобулочное изделие № 1	Энергетическая ценность – 213 ккал Жир общий – 0,5 Общие сахара – 1,82 Соль – 0,3 (Na – 0,12)	Жир общий – 17,0 НЖК – не норм. Общие сахара – 12,5 Добавл. сахара – не норм. Na – 0,5 (соль при пересчете на солевой эквивалент – 1,25)
2	Хлебобулочное изделие № 2	Энергетическая ценность – 238 ккал Жир общий – 1,3 Общие сахара – 2,32 Соль – 0,5 (Na – 0,2)	Жир общий – 17,0 НЖК – не норм. Общие сахара – 12,5 Добавл. сахара – не норм. Na – 0,5 (соль при пересчете на солевой эквивалент – 1,25)
3	Хлебобулочное изделие № 3	Энергетическая ценность – 268 ккал Жир общий – 2,06 Общие сахара – 3,2 Соль – 0,5 (Na – 0,2)	Жир общий – 17,0 НЖК – не норм. Общие сахара – 12,5 Добавл. сахара – не норм. Na – 0,5 (соль при пересчете на солевой эквивалент – 1,25)
4	Хлебобулочное изделие № 4	Энергетическая ценность – 217 ккал Жир общий – 1,05 Общие сахара – 1,44 Соль – 0,21 (Na – 0,084)	Жир общий – 17,0 НЖК – не норм. Общие сахара – 12,5 Добавл. сахара – не норм. Na – 0,5 (соль при пересчете на солевой эквивалент – 1,25)
5	Хлебобулочное изделие № 5	Энергетическая ценность – 212 ккал Жир общий – 1,05 Общие сахара – 0,81 Соль – 0,21 (Na – 0,084)	Жир общий – 17,0 НЖК – не норм. Общие сахара – 12,5 Добавл. сахара – не норм. Na – 0,5 (соль при пересчете на солевой эквивалент – 1,25)
6	Хлебобулочное изделие № 6	Энергетическая ценность – 272 ккал Жир общий – 2,02 Сахара общие – 6,61 Соль – 0,23 (Na – 0,092)	Жир общий – 17,0 НЖК – не норм. Общие сахара – 12,5 Добавл. сахара – не норм. Na – 0,5 (соль при пересчете на солевой эквивалент – 1,25)

Анализ данных, полученных при ранжировании пороговым методом, показал, что по всем регламентируемым моделью профилирования ВОЗ параметрам представленные образцы пищевых продуктов могут быть отнесены к более предпочтительным для реализации через буфеты, кафе и кафетерии учреждений образования. Крайне важно, что по содержанию соли, общего жира и общих сахаров образцы демонстрируют значительно более низкие уровни, чем регламентируется в модели профилирования ВОЗ.

Результаты гигиенического ранжирования методом нутриентного сора представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Результаты гигиенического ранжирования изученных образцов пищевых продуктов методом нутриентного сора

№	Наименование продукции	Дисквалифицирующие алиментарные факторы			Квалифицирующие алиментарные факторы			НС
		на 100 г продукции	баллы	НС _А	на 100 г продукции	баллы	НС _Б	
1	Хлебобулочное изделие № 1	Энергетическая ценность – 213 ккал	C _Э = 2	3	фрукты, овощи, орехи – 0 %	C _{ФО} = 0	3	0
		Насыщенный жир – 0,0 г	C _{НЖ} = 0		белок – 5,9 г	C _Б = 3		
		Общие сахара – 1,82 г	C _С = 0		общее количество пищевых волокон – 0,42 г	C _{КЛ} = 0		
		Соль – 0,3 г (Na – 0,12 г)	C _{Na} = 1					

№	Наименование продукции	Дисквалифицирующие алиментарные факторы			Квалифицирующие алиментарные факторы			НС
		на 100 г продукции	баллы	НС _А	на 100 г продукции	баллы	НС _Б	
2	Хлебобулочное изделие № 2	Энергетическая ценность – 238 ккал	$C_Э = 2$	4	Фрукты, овощи, орехи – 0 %	$C_{ФО} = 0$	5	-1
		Насыщенный жир – 0,0 г	$C_{НЖ} = 0$		Белок – 8,37 г	$C_Б = 5$		
		Общие сахара – 2,32 г	$C_С = 0$		Общее количество пищевых волокон – 0,44 г	$C_{кл} = 0$		
		Соль – 0,5 г (Na – 0,2 г)	$C_{Na} = 2$					
3	Хлебобулочное изделие № 3	Энергетическая ценность – 268 ккал	$C_Э = 3$	5	Фрукты, овощи, орехи – 0 %	$C_{ФО} = 0$	5	0
		Насыщенный жир – 0,00 г	$C_{НЖ} = 0$		Белок – 10,70 г	$C_Б = 5$		
		Общие сахара – 3,2 г	$C_С = 0$		Общее количество пищевых волокон – 0,41 г	$C_{кл} = 0$		
		Соль – 0,5 г (Na – 0,2 г)	$C_{Na} = 2$					
4	Хлебобулочное изделие № 4	Энергетическая ценность – 217 ккал	$C_Э = 2$	2	Фрукты, овощи, орехи – 0 %	$C_{ФО} = 0$	4	-2
		Насыщенный жир – 0,0 г	$C_{НЖ} = 0$		Белок – 7,02 г	$C_Б = 4$		
		Общие сахара – 1,44 г	$C_С = 0$		Общее количество пищевых волокон – 0,41 г	$C_{кл} = 0$		
		Соль – 0,21 (Na – 0,084 г)	$C_{Na} = 0$					
5	Хлебобулочное изделие № 5	Энергетическая ценность – 212 ккал	$C_Э = 2$	3	Фрукты, овощи, орехи – 0 %	$C_{ФО} = 0$	4	-1
		Насыщенный жир – 0,0 г	$C_{НЖ} = 0$		Белок – 6,91 г	$C_Б = 4$		
		Общие сахара – 0,81 г	$C_С = 0$		Общее количество пищевых волокон – 0,44 г	$C_{кл} = 0$		
		Соль – 0,21 г (Na – 0,084 г)	$C_{Na} = 1$					
6	Хлебобулочное изделие № 6	Энергетическая ценность – 272 ккал	$C_Э = 2$	5	Фрукты, овощи, орехи – 0 %	$C_{ФО} = 0$	5	0
		Насыщенный жир – 0,0 г	$C_{НЖ} = 0$		Белок – 8,1 г	$C_Б = 5$		
		Общие сахара – 6,61 г	$C_С = 2$		Общее количество пищевых волокон – 0,14 г	$C_{кл} = 0$		
		Соль – 0,23 г (Na – 0,092 г)	$C_{Na} = 1$					

При анализе результатов ранжирования представленных образцов пищевых продуктов методом нутриентного сора установлено, что все изученные образцы могут быть рекомендованы для включения их в ассортимент, предлагаемый для питания детей в учебных заведениях на основе уровня целевых ингредиентов и нутриентов, в том числе для реализации через буфеты, кафе и кафетерии учреждений образования.

В то же время при анализе результатов методом НС установлено, что необходимые значения НС для включения данных пищевых продуктов в ассортимент для питания школьников достигнуты за счет содержания белка и пищевых волокон при отсутствии в рецептурах фруктов, овощей, орехов, что определяет вектор направления создания новых видов хлебобулочных изделий с заданными свойствами.

Заключение. Проведенное исследование подтвердило эффективность и практическую применимость методологии гигиенического ранжирования для объективной оценки предпочтительности тех или иных пищевых продуктов для здоровых рационов и включения их в ассортимент, предлагаемый для питания детей в учебных заведениях на основе уровня целевых ингредиентов и нутриентов, в том числе для реализации через буфеты, кафе и кафетерии учреждений образования.

Сведения о НИР. НИР «Обосновать принципы гигиенического ранжирования пищевых продуктов на основе их состава и потенциального влияния на здоровье» подпрограммы «Безопасность среды обитания человека» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», 2021–2025 годы, регистрационный номер 20191605.

Литература

1. The top 10 causes of death // World Health Organization. – URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> (date of access: 03.10.2024).
2. Бреда, Х. Европейский план действий в области продовольствия и питания на 2015–2020 годы. Прделанная работа и возможности дальнейших действий для достижения целей в области устойчивого

развития к 2030 г. / Х. Бреда. – URL: https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/reu/europe/documents/events2017/FNsymp/PresRu/KN/3.pdf (date of access: 03.10.2024).

3. Growing epidemic of coronary heart disease in low- and middle-income countries / T. A. Gaziano, A. Bitton, S. Anand [et al.] // *Current Problems in Cardiology*. – 2010. – Vol. 35, № 2. – P. 72–115.

4. The global economic burden of non-communicable diseases / D. E. Bloom, E. T. Cafiero, E. Jane-Llopis [et al.] // *World Economic Forum*. – Geneva : World Economic Forum, 2011. – URL: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/44416/9789241500210_eng.pdf?sequence=1 (date of access: 03.10.2024).

5. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 // *Lancet*. – 2020. – Vol. 396, № 10258. – P. 1204–1222.

6. Health promotion and disease prevention knowledge gateway // European Commission. – URL: https://knowledge4policy.ec.europa.eu/health-promotion-knowledge-gateway/topic/societal-impacts-non-communicable-diseases_en (date of access: 10.10.2024).

7. Transforming the food system to fight non-communicable diseases / F. Branca, A. Lartey, S. Oenema [et al.] // *BMJ*. – 2019. – Vol. 364, suppl. 1. – P. 24–29.

8. Vienna declaration on nutrition and noncommunicable diseases in the context of health 2020, Vienna, Austria, 4–5 July 2013 // World Health Organization. – Copenhagen : WHO Reg. Office for Europe, 2013. – URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/350439> (date of access: 03.10.2024).

9. European food and nutrition action plan 2015–2020 // World Health Organization. – Copenhagen : WHO Reg. Office for Europe, 2014. – URL: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/329405> (date of access: 03.10.2024).

10. Set of recommendations on the marketing of foods and non-alcoholic beverages to children // World Health Organization. – Geneva : WHO, 2010. – URL: <https://www.who.int/publications/item/9789241500210> (date of access: 03.10.2024).

11. WHO Regional Office for Europe nutrient profile model // World Health Organization. – Copenhagen : WHO Reg. Office for Europe, 2015. – URL: https://www.researchgate.net/publication/275770274_WHO_Regional_Office_for_Europe_nutrient_profile_model (date of access: 03.10.2024).

12. WHO Regional Office for Europe nutrient profile model // World Health Organization. – Second ed. – Copenhagen : WHO Reg. Office for Europe, 2023. – URL: <https://www.who.int/europe/publications/i/item/WHO-EURO-2023-6894-46660-68492> (date of access: 03.10.2024).

13. Nutrient profiling technical guidance // Depart. of Health. – URL: https://assets.publishing.service.gov.uk/media/5a7cdac7e5274a2c9a484867/dh_123492.pdf (date of access: 03.10.2024).

14. Принципы гигиенического ранжирования пищевых продуктов на основе их состава и потенциального влияния на здоровье : инструкция по применению № 032-1221 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 11.05.2022 / РУП «Научно-практический центр гигиены»; Е. В. Федоренко, В. Г. Цыганков, И. И. Кедрова, Н. В. Цемборевич, А. М. Бондарчук. – Минск, 2021. – 21 с.

15. Dahl, W. J. Diet, nutrients and the microbiome / W. J. Dahl, D. Rivero Mendoza, J. M. Lambert // *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. – 2020. – Vol. 171. – P. 237–263.

16. Dietary fiber intervention on gut microbiota composition in healthy adults: a systematic review and meta-analysis / D. So, K. Whelan, M. Rossi [et al.] // *American Journal of Clinical Nutrition*. – 2018. – Vol. 107, № 6. – P. 965–983.

17. Chemical composition and amino acid content in different genotypes of wheat flour / A. Laze, V. Arapi, E. Ceca [et al.] // *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*. – 2019. – Vol. 63, № 4. – P. 618–628.

Tsygankov V. G., Fedorenko E. V., Bondaruk A. M., Osipova T. S., Zhurihina L. N., Svintilova T. N.

HYGIENIC RANKING OF BAKERY PRODUCTS PRODUCED

IN THE REPUBLIC OF BELARUS AND RECOMMENDED FOR SCHOOL MEALS

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

The ranking of certain types of bakery products was carried out using the methodology of ranking (profiling) of food products based on their nutritional value, ingredient composition and potential impact on health. The attribution of them to more or less preferable in the organization of catering for students in general secondary education institutions, including implementation through buffets, cafes and cafeterias was carried out.

Keywords: non-communicable diseases, hygienic ranking (profiling) of food, healthy eating, bakery products.

References

1. The top 10 causes of death. In: World Health Organization. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> (accessed 03 October 2024).
2. Breda, H. European food and nutrition action plan 2015–2020. Progress made and opportunities for further action to achieve the Sustainable Development Goals by 2030. Available at: https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/reu/europe/documents/events2017/FNsymp/PresRu/KN/3.pdf. (accessed 03 October 2024). (in Russian)
3. Gaziano T. A., Bitton A., Anand S. et al. Growing epidemic of coronary heart disease in low- and middle-income countries. *Curr Probl Cardiol*. 2010; 35(2): 72–115.
4. Bloom D. E., Cafiero E. T., Jané-Llopis E. et al. The global economic burden of non-communicable diseases. In: World Economic Forum. Geneva: World Economic Forum; 2011. Available at: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/44416/9789241500210_eng.pdf?sequence=1 (accessed 03 October 2024).
5. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*. 2020; 396(10258): 1204–22.
6. Health promotion and disease prevention knowledge gateway. In: European Commission. Available at: https://knowledge4policy.ec.europa.eu/health-promotion-knowledge-gateway/topic/societal-impacts-non-communicable-diseases_en (accessed 03 October 2024).
7. Branca F., Lartey A., Oenema S. et al. Transforming the food system to fight non-communicable diseases. *BMJ*. 2019; 364(suppl. 1): 24–9.
8. Vienna declaration on nutrition and noncommunicable diseases in the context of health 2020, Vienna, Austria, 4–5 July 2013. In: World Health Organization. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2013. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/350439> (accessed 03 October 2024).
9. European food and nutrition action plan 2015–2020. In: World Health Organization. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2014. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/329405> (accessed 03 October 2024).
10. Set of recommendations on the marketing of foods and non-alcoholic beverages to children. In: World Health Organization. Geneva: WHO; 2010. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241500210> (accessed 03 October 2024).
11. WHO Regional Office for Europe nutrient profile model. In: World Health Organization. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2015. Available at: https://www.researchgate.net/publication/275770274_WHO_Regional_Office_for_Europe_nutrient_profile_model (accessed 03 October 2024).
12. WHO Regional Office for Europe nutrient profile model. In: World Health Organization. Second ed. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2023. Available at: <https://www.who.int/europe/publications/i/item/WHO-EURO-2023-6894-46660-68492> (accessed 03 October 2024).
13. Nutrient profiling technical guidance. In: Department of Health. Available at: https://assets.publishing.service.gov.uk/media/5a7cdac7e5274a2c9a484867/dh_123492.pdf (accessed 03 October 2024).
14. Fedorenko E. V., Cygankov V. G., Kedrova I. I., Cemborevich N. V., Bondarchuk A. M. Principles of hygienic ranking of food products based on their composition and potential impact on health: instructions for use: instrukciya po primeneniyu № 032-1221. Ministry of Health of the Republic of Belarus 11.05.2022. Minsk; 2021. 21 p. (in Russian)
15. Dahl W. J., Rivero Mendoza D., Lambert J. M. Diet, nutrients and the microbiome. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2020; 171: 237–63.
16. So D., Whelan K., Rossi M. et al. Dietary fiber intervention on gut microbiota composition in healthy adults: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 2018; 107(6): 965–83.
17. Laze A., Arapi V., Ceca E. et al. Chemical composition and amino acid content in different genotypes of wheat. *Period Polytech Chem Eng*. 2019; 63(4): 618–28.

e-mail для переписки: vgz@tut.by

Поступила 12.11.2024

Раздел 5

МЕДИЦИНА ТРУДА

УДК 613.6.01:614.25

Васильева Т. Н., Скворцова В. А., Телюпина В. П.

РЕЗУЛЬТАТЫ СУБЪЕКТИВНОЙ ОЦЕНКИ УСЛОВИЙ ТРУДА МЕДИЦИНСКИМИ РАБОТНИКАМИ ОНКОДИСПАНСЕРА И ОТНОШЕНИЯ К СВОЕМУ ЗДОРОВЬЮ

Федеральное бюджетное учреждение науки «Нижегородский научно-исследовательский институт гигиены и профпатологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, г. Нижний Новгород, Россия

Аннотация. В статье обсуждается специфика профессиональной деятельности, отношение к здоровью и субъективная оценка условий труда среднего медицинского персонала онкодиспансера. Проведено анкетирование 40 работниц онкодиспансера со средним медицинским образованием, в возрасте от 29 до 63 лет, с общим стажем работы от 6 до 43 лет и стажем работы в профессии от 2 до 43 лет. Результаты исследования показали, что респонденты информированы о неблагоприятных условиях их труда («радиации», «продолжительной работе с ПЭВМ», «зрительном напряжении и напряжении внимания»; «высокой личной ответственности за принимаемые решения»); преимущества рабочего места («хорошее самочувствие», желание «не отрываться от коллектива» и др.) и его недостатках («значительное время, затрачиваемое на дорогу в офис и домой», «график работы» и «работу в праздничные дни»); принципах ведения ЗОЖ; популярных здоровьесберегающих практиках («соблюдение режима сна и отдыха», «приверженность здоровому питанию» и «активный отдых»). Зафиксированы позитивная самооценка здоровья, отказ от вредных привычек, наличие «лишнего веса» и хронических неинфекционных заболеваний у трети испытуемых. Рекомендуются внедрение в организационную культуру здоровьесберегающих мероприятий управленческого, гигиенического, медицинского и психологического характера.

Ключевые слова: субъективная оценка, онкодиспансер, условия труда, отношение к здоровью.

Введение. Установлено, что профессиональная деятельность медицинского работника связана, с одной стороны, с большим объемом пациентов, требующих эмпатии и сострадания, высокой ответственностью за конечный результат, а с другой – с дефицитом времени, нестабильностью работы, связанной с реструктуризацией организаций, необходимостью одновременного использования и цифровых технологий, и бумажных носителей информации. По мнению Ю. Ю. Горблянского с соав. (2020), значимыми психосоциальными факторами на рабочем месте медицинского работника являются повышенная трудовая нагрузка и напряженность труда с несоответствием трудового вклада оплате труда, отсутствием поддержки, недостаточной правовой защитой, неудовлетворенность организацией труда, что негативно сказывается на психологическом и физическом здоровье работника. Психосоциальные факторы, представляя собой детерминанты стресса, являются и факторами риска развития сердечно-сосудистых заболеваний и неблагоприятных сердечно-сосудистых исходов [1]. В связи с этим медикам важно не только пропагандировать бережное отношение к здоровью, но и самим вести здоровый образ жизни, так как в социальном сознании врач – это образец ценностного отношения к собственному здоровью и для пациента, и для всего российского населения [2–4].

Цель работы – субъективная оценка условий труда медицинскими работниками онкодиспансера и их отношения к своему здоровью.

Материалы и методы. В анкетировании принимали участие 40 работниц онкодиспансера со средним медицинским образованием, из которых 30 медицинских сестер процедурной и 10 рентгенлаборантов в возрасте от 29 до 63 лет (в среднем – $44,8 \pm 1,33$), с общим стажем работы от 6 до 43 лет ($25,1 \pm 1,41$) и стажем работы в профессии от 2 до 43 лет ($16,6 \pm 1,76$). У 36 респондентов график работы следующий: длительность рабочего дня – 6 часов, две смены, 5 рабочих дней, 2 выходных. 4 человека работают сутки (24 часа) через трое.

Проведен анализ ответов респондентов на анкеты «Оценка условий труда» и «Здоровый образ жизни (ЗОЖ)», разработанные сотрудниками ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт гигиены и профпатологии» Роспотребнадзора.

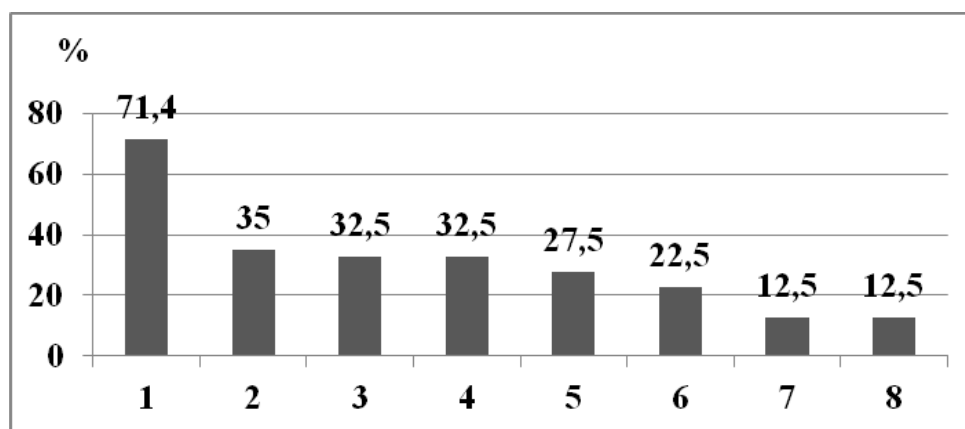
Анкета «Оценка условий труда», состоящая из 18 вопросов открытого и закрытого типа, включает следующие блоки: «Общие сведения»; «Самооценка симптомов усталости»; «Связь между возможными дискомфортными состояниями и производственными факторами»; «Основная проблема рабочего места» и «Уровень информированности об условиях труда»; «Причины предпочтения/отвержения» работы».

Анкета «Здоровый образ жизни (ЗОЖ)» состоит из 24 вопросов открытого и закрытого типа. Анализ подвергались ответы респондентов на вопросы, отражающие их отношение к ведению ЗОЖ, самооценку здоровья, здоровьесберегающие практики; наличие/отсутствие вредных привычек (поведенческих факторов риска); наличие стрессов, их виды и способы преодоления; наличие/отсутствие хронических неинфекционных заболеваний (далее – ХНИЗ).

Опрос проводился в анонимной форме с соблюдением всех этических норм, изложенных в Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации и Директивах Европейского сообщества, в первой половине дня, временные ограничения на ответы нами не устанавливались. Анализировали частоту ответов в процентах.

Результаты и их обсуждение. Основными направлениями работы медицинской сестры процедурной в онкодиспансере являются: выполнение врачебных назначений, включая забор биологических материалов для лабораторных исследований; постановка внутривенных, внутримышечных, подкожных и внутривоженных инъекций, сбор и постановка инвазионных систем, постановка внутривоженных проб на чувствительность к лекарственным препаратам; контроль за состоянием больного во время анестезии, интенсивной терапии и реанимации; ведение по установленной форме необходимой учетной документации; осуществление строгого учета, использования и хранения лекарственных средств группы А и Б. Функциональные обязанности рентген-лаборанта включают: подготовку пациентов к рентгенологическим исследованиям; проведение рентгеновских снимков (рентгенография всех систем и органов); проведение маммографических исследований; ведение учетно-отчетной медицинской документации. К профессионально важным качествам медсестры и рентген-лаборанта, работающих с онкологическими больными, относятся: моральная нормативность, эмпатичность, коммуникабельность, стрессоустойчивость, аккуратность, исполнительность, широкое мировоззрение и др. [5].

В качестве неблагоприятных условий труда респонденты отмечают: «радиацию», «продолжительную работу с ПЭВМ», «зрительное напряжение и напряжение внимания»; «высокую личную ответственность за принимаемые решения» и «высокое нервно-эмоциональное напряжение» (рисунок 1).



1 – радиация;
2 – продолжительная работа с ПЭВМ;
3 – зрительное напряжение и напряжение внимания;
4 – высокая личная ответственность за принимаемые решения;

5 – высокое нервно-эмоциональное напряжение;
6 – высокая умственная и информационная нагрузка;
7 – дефицит времени на выполнение задания;
8 – необходимость длительного сосредоточенного наблюдения.

Рисунок 1 – Субъективная оценка условий труда медицинскими работниками онкодиспансера

По мнению большинства опрошенных (77,5 %) эти производственные факторы в конце смены вызывают «состояние усталости», причем 80 % респондентов ощущает состояние «общей усталости» лишь «иногда». Кроме того, 5 опрошенных связывает «состояние усталости» с «сухостью и раздражением кожи» (12,5 %) и «чувством раздражительности и депрессии» (12,5 %). Как правило, «ощущение усталости» проявляется «к концу рабочего дня» у 45 % медиков, у трети – «в течении рабочего дня» (32,5 %). У большей части респондентов «чувство усталости» исчезает самостоятельно (67,5 %), у пятой части – в «нерабочие дни недели» (22,5 %), у шести человек – только в «отпускной период» (15 %).

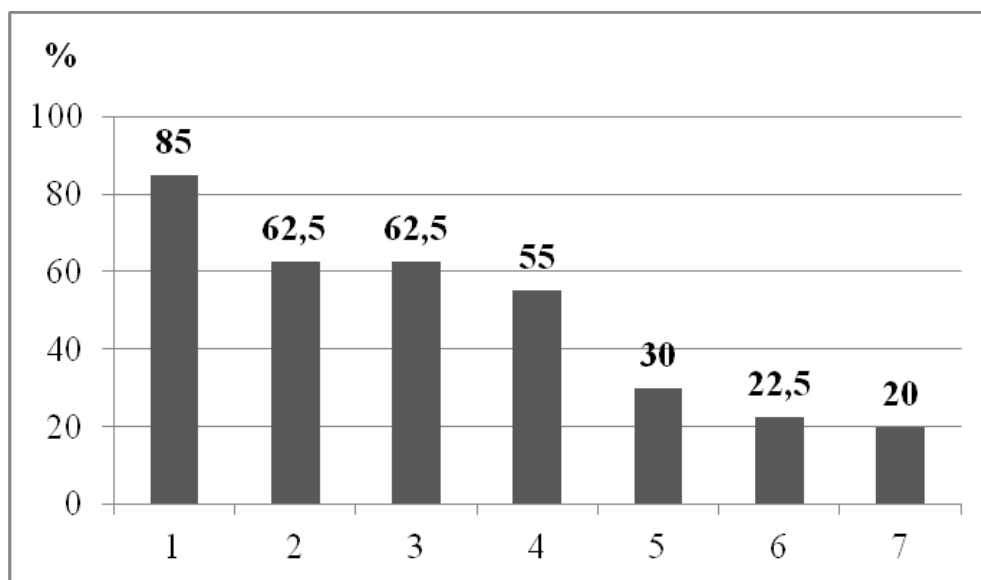
55 % респондентов основной производственной проблемой считают «наличие вредных факторов труда», треть – «большую загруженность и как следствие постоянная усталость» (32,5 %), пятая часть – «высокую степень ответственности и напряженности труда» (22,5 %).

Половина опрошенных к причинам удовлетворения работой в онкодиспансере причисляет «финансовые соображения» (50 %) и «желание заработать пенсию и другие льготы» (47,5 %). Треть опрошенных главным преимуществом данного рабочего места считает «хорошее самочувствие» и желание «не отрываться от коллектива» (35 %). 7 респондентов отмечают «любовь к профессии», «помощь людям», «удобный график» и «хороший коллектив». Минусом данной работы для пятой части испытуемых является «значительное время, затрачиваемое на дорогу в офис и домой» (20 %), для 6 человек – «график работы» и «работа в праздничные дни» (15 %).

У респондентов сформировано представление о ЗОЖ, в том числе: «здоровое питание» (92,5 %); «занятия спортом, поддержание оптимальной физической формы» (92,5 %); «прохождение ежегодного медосмотра» (87,5 %); «отказ от вредных привычек» (курение, алкоголь, наркотики (85 %)); «соблюдение режима дня» (77,5 %); «соблюдение правил гигиены» (72,5 %); «умение справляться со своими эмоциями, гармония с собой» (50 %) и «регулярное посещение врача с целью профилактики» (50 %). Хотя 60 % опрошенных признает важность ведения ЗОЖ, невозможность следования его принципам медики объясняют «недостатком времени» (52,5 %) и ленью – «отсутствием необходимого упорства, воли, настойчивости» (45 %).

Меры здоровьесбережения респондентов представлены на рисунке 2.

К трем популярным здоровьесберегающим практикам относятся: «соблюдение режима сна и отдыха», «здоровое питание» и «активный отдых».



1 – (пешие прогулки в парке, лесу);

2 – приверженность здоровому питанию;

3 – занимаюсь на домашних тренажерах;

4 – «иногда» занимаюсь спортом; участие в массовых спортивных мероприятиях;

5 – стараюсь заменять непродолжительные

транспортные поездки на ходьбу (не менее

8 тыс. шагов в день по приложению на смартфоне

«Здоровье»);

6 – занимаюсь регулярно (2-3 раза в неделю);

7 – участие в массовых спортивных мероприятиях.

Рисунок 2 – Здоровьесберегающие практики медицинских работников онкодиспансера

Несмотря на позитивную оценку здоровья «хорошее» (62,5 %) и «среднее» (37,5 %), половина респондентов признает наличие «лишнего веса» (57,5 %), с которым старается бороться «ограничением потребления мучного, сладкого, жирного» (40 %), «повышением физической активности» (32,5 %) и «уменьшением порций» (22,5 %). У трети опрошенных (32,5 %) диагностированы ХНИЗ: сердечно-сосудистые (2 случая), опорно-двигательного аппарата (5 случаев), желудочно-кишечного тракта (5 случаев) и 1 случай сахарного диабета. Позитивными мерами сохранения здоровья большинства респондентов можно считать отказ от вредных привычек: «отказ от курения» (90 %) и «редкое употребление алкоголя» (85 %).

Заключение. Анализ субъективной оценки труда средним медицинским персоналом онкодиспансера выявил: неблагоприятные условия труда («радиацию», «продолжительную работу с ПЭВМ», «зрительное напряжение и напряжение внимания»; «высокую личную ответственность за принимаемые решения»); преимущества рабочего места («хорошее самочувствие», желание «не отрываться от коллектива», «любовь к профессии» и «помощь людям») и его недостатки («значительное время, затрачиваемое на дорогу в офис и домой», «график работы» и «работу в праздничные дни»). Результаты исследования выявили: сформированность принципов ведения ЗОЖ; популярные здоровьесберегающие практики («соблюдение режима сна и отдыха», «приверженность здоровому питанию» и «активный отдых»); позитивную самооценку здоровья; наличие «лишнего веса»; отказ от вредных привычек; у трети опрошенных зафиксированы ХНИЗ.

Для сохранения здоровья медицинских работников руководству онкодиспансера рекомендуется проводить постоянный мониторинг состояния здоровья работников в рамках углубленного медицинского осмотра, а также внедрять в организационную культуру здоровьесберегающие мероприятия управленческого, гигиенического, медицинского и психологического характера, например: наглядной агитации (стенды, флаеры) о рекреационно-природных ресурсах России и вариантах лечебно-оздоровительного туризма как средств самосохранения здоровья; обучение работников психотерапевтическим практикам, направленным на повышение стрессоустойчивости и ведения ЗОЖ и др.

Сведения о НИР. НИР «Обоснование методов формирования здорового образа жизни в различных профессиональных группах с целью снижения профессионального риска», регистрационный номер 121021200081-2.

Литература

1. Горблянский, Ю. Ю. Психосоциальные производственные факторы и риск нарушений здоровья медицинских работников (тематический обзор) / Ю. Ю. Горблянский, Е. П. Конторович, О. П. Понамарева, Е. И. Волынская, В. Н. Крищенко // Южно-Российский журнал терапевтической практики. – 2020. – № 1(3). – С. 27-36. DOI: 10.21886/2712-8156-2020-1-3-27-36.

2. Введенский, А. И. Аксиология здоровья в системе ценностей работников социальной сферы / А. И. Введенский // Общественное здоровье и здравоохранение. – 2021. – № 69. – С. 9–13.

3. Раменский, П. О., Смирнова, Е. С. Здоровье в системе ценностных ориентаций, здоровьесберегающих практик и профессиональной деятельности медицинских работников / П. О. Раменский, Е. С. Смирнова // Здоровье мегаполиса. – 2022. – Т. 3. – № 4. – С. 100-106. DOI: 10.47619/2713-2617.zm.2022.v.3i4;100–106.

4. Аксенова, Е. И., Камынина, Н. Н., Турзин, П. С. Медицина образа жизни и рекомендации, направленные на формирование мотивации медицинских работников к здоровому образу жизни за рубежом / Е. И. Аксенова, Н. Н. Камынина, П. С. Турзин // Здоровье мегаполиса. – 2023. – Т. 4, вып. 3. – С. 120-129. DOI: 10.47619/2713-2617.zm.2023.v.4i3;120–129.

5. Адухова, М. М., Шахмарданова, Л. Д. Психологическая структура профессионально важных качеств медицинских работников онкологических центров / М. М. Адухова, Л. Д. Шахмарданова // Молодой ученый. – 2023. – № 17(464). – С. 274-276. – Режим доступа: <https://moluch.ru/archive/464/101748/> (дата обращения: 20.09.2024).

Vasilyeva T. N., Skvortsova V. A., Telyupina V. P.

THE RESULTS OF A SUBJECTIVE ASSESSMENT OF WORKING CONDITIONS BY MEDICAL WORKERS OF THE ONCOLOGICAL DISPENSARY AND THEIR ATTITUDE TO THEIR HEALTH

Federal Budgetary Institution of Science «Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Hygiene and Occupational Diseases» of the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-being, Nizhny Novgorod, Russia

The article discusses the specifics of professional activity, attitude to health and subjective assessment of working conditions of the oncology dispensary's nursing staff. A questionnaire survey was conducted among 40 female employees of an oncology dispensary with secondary medical education, aged from 29 to 63 years, with a total work experience from 6 to 43 years and a work experience in the profession from 2 to 43 years. The results of the study showed that the respondents were informed about: unfavorable conditions of their work («radiation», «prolonged work with PCs», «visual and attention strain», «high personal responsibility for decisions»); advantages of the workplace («good health», desire «not to be separated from the team», etc.) and its disadvantages («radiation», «prolonged work with PCs», «visual and attention strain», «high personal responsibility for decisions») and its disadvantages («considerable time spent on traveling to the office and home», «work schedule» and «work on holidays»); principles of healthy lifestyle; popular health-saving practices («observance of sleep and rest regime», «commitment to healthy eating» and «active rest»). Positive self-assessment of health; avoidance of bad habits; presence of «overweight» and chronic non-communicable diseases in one third of the subjects were recorded. It is recommended to introduce health-saving measures of managerial, hygienic, medical and psychological nature into the organizational culture.

Keywords: subjective assessment, oncology dispensary, working conditions, attitude to health.

References

1. Gorblyanskij Yu. Yu., Kontorovich E. P., Ponamareva O. P. et al. Psychosocial production factors and the risk of health disorders of medical workers (thematic review) // Yuzhno-Rossijskij zhurnal terapevticheskoj praktiki. – 2020. – № 1(3). – P. 27–36. DOI: 10.21886/2712-8156-2020-1-3-27-36. (in Russian)
2. Vvedenskij A. I. Axiology of health in the value system of social workers // Obshchestvennoe zdorov'e i zdravoohranenie. – 2021. – No. 69. – P. 9–13. (in Russian)
3. Ramenskij P. O., Smirnova E. S. Health in the system of value orientations, health-saving practices and professional activities of medical workers // Zdorov'e megapolisa. – 2022. – Vol. 3. – No. 4. – P. 100–106. DOI: 10.47619/2713-2617.zm.2022.v.3i4; 100–106. (in Russian)
4. Aksenova E. I., Kamynina N. N., Turzin P. S. Lifestyle medicine and recommendations aimed at motivating medical workers to a healthy lifestyle abroad // Zdorov'e megapolisa. – 2023. – vol. 4, issue 3. – P. 120–129. DOI: 10.47619/2713-2617.zm.2023.v.4i3; 120–129. (in Russian)
5. Aduhova M. M., Shahmardanova L. D. The psychological structure of professionally important qualities of medical workers in cancer centers // Molodoj uchenyj. – 2023. – № 17(464). – P. 274–276. – Access mode: <https://moluch.ru/archive/464/101748/> (accessed 20 September 2024). (in Russian)

e-mail для переписки: tatiana.vasilvas@yandex.ru

Поступила 04.10.2024

Герасимиди С. К.^{1,2}, Глухов Д. В.¹, Еремеева А. Г.¹, Калинина С. А.¹, Сапрыкина П. Д.³

ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТОЯНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ У МАШИНИСТОВ ЭЛЕКТРОПОЕЗДОВ, ПЕРЕБОЛЕВШИХ COVID-19 (18 МЕСЯЦЕВ НАБЛЮДЕНИЯ)

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н. Ф. Измерова»,
г. Москва, Россия

² Частное учреждение здравоохранения «Клиническая больница «РЖД-МЕДИЦИНА»
имени Н. А. Семашко», г. Москва, Россия

³ Частное учреждение здравоохранения «Поликлиника «РЖД-МЕДИЦИНА» поселка Беркаakit»,
п. Беркаakit, Россия

Аннотация. Машинисты электропоездов относятся к группе риска по развитию сердечно-сосудистых заболеваний, в частности артериальной гипертензии. Развитию артериальной гипертензии способствуют производственные и непроизводственные факторы риска, а также инфекционные заболевания, в том числе COVID-19. Длительное динамическое наблюдение выявило в более чем половине случаев артериальную гипертензию у машинистов с ожирением. Расчет по шкалам SCORE позволил определить риск развития сердечно-сосудистых событий: менее 4,0 % – до 40 лет, более 7,5 % – старше 40 лет. Изменения структурных и функциональных показателей сердечно-сосудистой системы выявлены преимущественно у работников, переболевших среднетяжелой/тяжелой формой COVID-19. Исследование брахиоцефальных артерий с определением индекса резистентности показало себя значимым методом оценки состояния сердечно-сосудистой системы и может быть предложено в Приказ Минтранса РФ от 19.10.2020 № 428, что позволит улучшить экспертизу трудоспособности машинистов.

Ключевые слова: машинисты электропоездов, COVID-19, сердечно-сосудистая система, медицинские осмотры, индекс резистентности, нарушение релаксации.

Введение. Машинисты электропоездов являются одной из наиболее значимых профессиональных групп на железнодорожном транспорте, которая при этом относится к группе риска по развитию сердечно-сосудистых заболеваний. Согласно результатам исследования Жидковой Е. А. с соавт., распространенность артериальной гипертензии (далее – АГ) среди машинистов электропоездов достигает 60 % [1]. Развитию АГ способствуют как производственные – класс условия труда 3.2 [2], так и непроизводственные факторы риска – курение, нерациональное питание, инфекционные заболевания [3, 4]. Последствия пандемии COVID-19 остаются предметом обсуждения, установлено, что даже спустя 3–6–12 месяцев после заболевания COVID-19 у переболевших отмечается повышенный уровень артериального давления (далее – АД) [5].

Для оценки состояния здоровья машинистов на протяжении их профессиональной деятельности проводятся медицинские осмотры с определением сердечно-сосудистого риска (далее – ССР). Переболевшие COVID-19 машинисты проходят внеочередные медицинские осмотры согласно Приказу Минтранса РФ № 428 от 19.10.2020. Авторами проведены дополнительные функциональные исследования сердечно-сосудистой системы (далее – ССС), которые позволили более детально изучить состояние здоровья работников после перенесенного COVID-19.

Цель исследования. Изучение структурных и функциональных показателей ССС машинистов электропоездов, переболевших COVID-19, и их динамики в течение 18 месяцев наблюдения.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 65 машинистов электропоездов Центрального Федерального округа РФ мужского пола в возрасте (41,1 ± 6,2) года, со стажем работы в должности более 10 лет, переболевшие COVID-19 в I–II квартале 2022 года. Коронавирусная инфекция подтверждена методом полимеразной цепной реакции или иммуноферментным анализом. В настоящее время работники продолжают трудовую деятельность в той же должности. Легкой формой коронавирусной инфекции в амбулаторных условиях переболели 33 машиниста, 32 – среднетяжелой или тяжелой формой в условиях стационара. Критериями невключения стали: наличие в анамнезе у работников бронхиальной астмы, течение АГ с поражением органов-мишеней, ишемическая болезнь сердца, клапанные пороки сердца, сахарный диабет, ожирение II–III степени.

Работники были разделены на группы в зависимости от уровня показателей АД и формы течения COVID-19: I группа – переболевшие легкой формой COVID-19 с АГ (n = 10); II группа – переболевшие легкой формой COVID-19 без АГ (n = 23); III группа – переболевшие среднетяжелой/тяжелой формой COVID-19 с АГ (n = 13); IV группа – переболевшие среднетяжелой/тяжелой формой COVID-19 без АГ (n = 19).

Каждому работнику выполнен комплекс клинических и диагностических исследований. Проводился сбор анамнеза и антропометрических данных. Измерение офисного систолического и диастолического АД проводилось с помощью механического тонометра LD-71 (Little Doctor, Китай) и стетоскопа Lightweight II SE (3M Littmann, США). Эхокардиография (далее – ЭхоКГ) и триплексное сканирование брахиоцефальных артерий (далее – БЦА) проведены на аппарате «Logiq P6» (GE Ultrasound, Южная Корея) с использованием секторного фазированного (от 1 до 8 МГц) и линейного (от 4 до 12 МГц) датчиков, с использованием В- и М-режима, режима импульсного доплера, цветового доплеровского картирования. Исследовались параметры: толщина межжелудочковой перегородки в диастолу (далее – МЖПд), задняя стенка левого желудочка в диастолу (далее – ЗСЛЖд), конечный диастолический размер (далее – КДР), индекс массы миокарда левого желудочка (далее – ИММЛЖ), E – пиковая скорость раннего диастолического наполнения левого желудочка; A – пиковая скорость позднего диастолического наполнения, E/A – их соотношение, DT – время замедления потока раннего наполнения, IVRT – время изоволюмического расслабления желудочка, мс [6]. На экстракраниальном уровне визуализировались и оценивались общие сонные артерии (далее – ОСА), внутренние сонные артерии (далее – ВСА), на интракраниальном уровне – средние мозговые артерии (далее – СМА), в них исследовались индексы резистентности (далее – RI), дополнительно на экстракраниальном уровне оценивалась форма сосудов. Выполнено холтеровское мониторирование электрокардиограммы (далее – ХМ ЭКГ) с использованием аппаратной системы суточного мониторирования ЭКГ «Миокард холтер-2» (ООО «НИМП ЕСН», Россия), исследовались параметры частоты сердечных сокращений (далее – ЧСС): среднесуточная, среднедневная, средненочная. Велоэргометрия (далее – ВЭМ) проведена на аппарате «Ergoselect 200» (Ergoline GmbH, Германия), исследовались параметры АДс и АДд на пике нагрузки. Осуществлен забор крови для определения уровня общего холестерина и липопротеидов высокой плотности (далее – ЛПВП), для расчета показателя не-ЛПВП и абсолютного ССР для лиц старше 40 лет по шкале SCORE-2 для стран с очень высоким риском и определения относительного ССР для лиц младше 40 лет по шкале SCORE.

Индекс массы тела (далее – ИМТ) измерялся по формуле А. Кетле ($\text{кг}/\text{м}^2$), показатели роста и веса учитывали при последнем прохождении ультразвуковых исследований натощак, дополнительно рассчитан индекс курения (пачка/лет).

В работе использованы архивные данные ЭхоКГ за 2021 год. Собственные исследования проведены в 2022–2023 годах, в комиссионный и межкомиссионный периоды. В 2023 году измерения проводились дважды, первая половина 2023 года обозначена как «2023_1», вторая половина 2023 года – «2023_2».

Статистический анализ данных проведен с помощью IBM SPSS Statistics 26. Для выявления статистически значимых различий в значениях исследуемых показателей за 2021–2023 годы в случае нормального распределения данных был применен тест ANOVA-RM с учетом поправок при нарушении сферичности данных, при ненормальном распределении – анализ по критерию Фридмана и пост-хок тест с поправкой Бонферрони. В данной работе не рассматриваются межгрупповые сравнения исследуемых показателей за каждый год измерений.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н. Ф. Измерова», протокол № 1 от 16 февраля 2022 года.

Результаты и обсуждение. Полученные результаты ЭхоКГ указывают на увеличение показателей МЖПд, ЗСЛЖд, КДР и ИММЛЖ в исследуемых группах за весь период наблюдения, однако в большей мере – у машинистов с АГ. Показатели диастолической функции в большей мере с признаками нарушения релаксации также выявлены у машинистов с АГ. В таблице 1 приведены значения показателей с указанием статистических критериев проведенных анализов повторных измерений с 2021 по 2023 год.

Апостериорные критерии выявили различия между всеми повторными измерениями во всех исследуемых группах таких показателей, как ЗСЛЖд ($p < 0,012$); ИММЛЖ ($p < 0,046$), кроме значений за 2021 и 2022 годы в I группе; МЖПд и КДР ($p < 0,018$), кроме значений за первую и вторую половины 2023 года в IV группе ($p > 0,05$).

Таблица 1 – Показатели ЭхоКГ машинистов электропоездов, Ме [Q25; Q75]

Показатели	Группы, статистики критериев	Годы			
		2021	2022	2023_1	2023_2
МЖПд, мм	I, F = 38,669, p = 0,000	9,2 [8,8; 9,5]	9,5 [9,1; 9,7]	9,7 [9,2; 9,9]	10,0 [9,4; 10,5]
	II, F = 134,184, p = 0,000	8,3 [8,2; 8,7]	8,9 [8,4; 9,3]	9,1 [8,7; 9,4]	9,5 [9,1; 9,9]
	III, F = 45,332, p = 0,000	8,8 [8,6; 9,2]	9,1 [8,9; 9,5]	9,6 [9,3; 9,9]	10,4 [9,7; 10,6]
	IV, F = 26,965, p = 0,000	8,9 [8,4; 9,1]	9,1 [8,6; 9,4]	9,2 [8,9; 9,6]	9,6 [9,2; 10,3]
ЗСПЖд, мм	I, Q = 30,000, p = 0,000	8,8 [8,8; 9,5]	9,1 [9,0; 9,6]	9,3 [9,2; 9,9]	9,6 [9,4; 10,0]
	II, Q = 57,104, p = 0,000	8,4 [8,3; 9,3]	8,5 [8,4; 9,0]	8,9 [8,7; 9,3]	9,2 [9,0; 9,8]
	III, F = 41,902, p = 0,000	8,8 [8,4; 9,5]	9,1 [8,9; 9,6]	9,3 [9,2; 9,9]	9,8 [9,4; 10,1]
	IV, F = 61,603, p = 0,000	8,7 [8,5; 8,9]	8,9 [8,7; 9,3]	9,2 [8,9; 9,4]	9,4 [9,1; 10,2]
КДР, мм	I, F = 64,828, p = 0,000	50,0 [49,7; 52,0]	51,0 [51,0; 53,0]	52,0 [51,0; 54,0]	54,0 [52,0; 55,0]
	II, F = 39,756, p = 0,000	50,0 [49,0; 52,0]	51,0 [50,0; 52,0]	52,0 [51,0; 52,0]	52,0 [52,0; 52,0]
	III, F = 52,532, p = 0,000	50,0 [49,0; 51,0]	51,0 [50,5; 52,0]	52,0 [51,0; 54,0]	54,0 [52,5; 54,5]
	IV, F = 25,352, p = 0,000	51,0 [48,0; 52,0]	52,0 [50,0; 53,0]	52,0 [51,0; 53,0]	53,0 [52,0; 54,0]
ИММЛЖ, г/м ²	I, F = 35,555, p = 0,000	73,1 [69,7; 76,9]	75,3 [73,3; 83,4]	82,8 [75,1; 84,1]	90,1 [82,2; 98,6]
	II, F = 38,039, p = 0,000	68,4 [59,0; 71,2]	69,0 [60,9; 74,3]	73,4 [68,4; 85,7]	80,3 [74,6; 91,5]
	III, F = 56,069, p = 0,000	71,4 [64,5; 75,5]	73,7 [69,3; 79,2]	82,8 [75,1; 88,2]	94,7 [84,0; 98,5]
	IV, F = 30,989, p = 0,000	69,1 [62,5; 71,3]	71,6 [69,3; 82,3]	77,5 [70,2; 83,3]	83,0 [76,5; 85,0]
Е/А	I, Q = 18,455, p = 0,000	1,6 [1,5; 1,6]	0,9 [0,8; 1,2]	1,0 [0,9; 1,1]	0,8 [0,7; 1,1]
	II, Q = 52,030, p = 0,000	1,6 [1,5; 1,7]	1,6 [1,5; 1,6]	1,5 [1,4; 1,6]	1,4 [1,4; 1,5]
	III, F = 44,305, p = 0,000	1,5 [1,5; 1,6]	1,0 [0,9; 1,2]	1,0 [0,9; 1,0]	0,8 [0,6; 0,8]
	IV, Q = 32,356, p = 0,000	1,6 [1,6; 1,7]	1,6 [1,5; 1,6]	1,5 [1,5; 1,6]	1,4 [1,4; 1,5]
DT, мс	I, F = 28,752, p = 0,000	180,5 [174,5; 190,2]	237,0 [227,7; 241,2]	217,0 [206,0; 241,0]	242,0 [212,0; 251,0]
	II, p > 0,05	196,0 [179,0; 212,0]	185,0 [179,0; 194,0]	185,0 [180,0; 198,0]	188,0 [185,0; 199,0]
	III, F = 35,658, p = 0,000	176,0 [168,0; 186,0]	235,0 [225,5; 241,0]	239,0 [205,0; 248,5]	242,0 [206,5; 253,5]
	IV, p > 0,05	189,0 [181,0; 202,0]	197,0 [186,0; 200,0]	197,0 [196,0; 212,0]	188,0 [177,0; 210,0]
IVRT, мс	I, Q = 20,040, p = 0,000	82,0 [77,0; 85,0]	103,5 [93,0; 113,2]	95,0 [88,7; 97,0]	100,0 [98,2; 108,5]
	II, Q = 16,103, p = 0,001	81,0 [80,0; 85,0]	82,0 [77,0; 88,0]	76,0 [75,0; 82,0]	76,0 [74,0; 83,0]
	III, F = 19,079, p = 0,000	79,0 [76,5; 85,0]	93,0 [90,0; 111,5]	100,0 [92,5; 106,0]	111,0 [95,0; 121,0]
	IV, p > 0,05	78,0 [75,0; 82,0]	77,0 [76,0; 84,0]	79,0 [73,0; 82,0]	81,0 [77,0; 82,0]

На момент 2022 года у машинистов с АГ выявлено формирование нарушения и нарушение (изолированное) релаксации левого желудочка (далее – ЛЖ). В группах с АГ в первой половине 2023 года выявлена нормальная ДФ ЛЖ или ДФ с формированием нарушения релаксации ЛЖ, а во второй половине 2023 года у части работников вновь диагностировано нарушение релаксации ЛЖ.

Апостериорные критерии позволили установить различия в значениях показателей E/A для I, III, IV групп и DT для I, III групп при измерениях в 2021 и в 2022, 2023_1, 2023_2 ($p < 0,010$). Пост-хок тесты также выявили различия между измерениями показателей: E/A в 2023_1 и 2021, 2022; 2023_2 и 2021, 2022 годах ($p < 0,000$) для группы II; IVRT в 2021 и 2022, 2023_2 годах ($p < 0,011$) для группы I; IVRT в 2023_1 и 2021, 2022 годах ($p < 0,022$) для группы II; IVRT в 2021 и 2022, 2023_1, 2023_2; 2022 и 2023_2; 2023_1 и 2023_2 годах ($p < 0,002$) для группы III. Различий в значениях повторных измерений показателей DT для II и IV групп, IVRT для IV группы не выявлено ($p > 0,05$).

Таким образом, у машинистов с АГ диагностированы признаки начального ремоделирования линейных показателей полости ЛЖ, что в дальнейшем может проявляться в виде дилатации и гипертрофии левых отделов сердца. На момент окончания наблюдения в большинстве случаев у машинистов I (60,0 %) и III (53,8 %) групп наблюдается нарушение релаксации ЛЖ, которое может наблюдаться при ряде состояний, включающих АГ [7].

При оценке формы ОСА и ВСА получены девиации в виде волнообразно извитых артерий, результаты указаны в таблице 2.

Таблица 2 – Количество выявленных девиаций БЦА на экстракраниальном уровне машинистов электропоездов

Год исследования	Девиации БЦА в группах							
	I, ОСА	I, ВСА	II, ОСА	II, ВСА	III, ОСА	III, ВСА	IV, ОСА	IV, ВСА
2022	–	–	–	2	4	2	2	1
2023_1	–	–	–	2	5	4	2	1
2023_2	2	1	–	2	8	4	3	1

Девиации на экстракраниальном уровне могли быть сформированы как в процессе заболевания COVID-19 (проникая в клетки эндотелия, вирус может приводить к макро- и микрососудистым дисфункциям [8, 9]), так и являться врожденным процессом или приобретенным до вирусного заболевания. Следовательно, было принято решение оценивать RI на экстра- и интракраниальном уровнях. В связи с тем что статистически значимых различий в значениях RI на уровнях ОСА, ВСА и СМА в группах II и IV за 2022–2023 годы не выявлено ($p > 0,05$), в таблице 3 представлены данные машинистов I и III групп.

Таблица 3 – Показатели RI брахиоцефальных артерий машинистов электропоездов I и III групп, Me [Q25; Q75]

Показатель	Группы, год исследования, статистика критерия					
	I, 2022	I, 2023_1	I, 2023_2	III, 2022	III, 2023_1	III, 2023_2
RI ОСА	0,64 [0,63; 0,65]	0,67 [0,64; 0,67]	0,67 [0,66; 0,69]	0,63 [0,62; 0,64]	0,76 [0,65; 0,69]	0,70 [0,68; 0,73]
	F = 9,883, p = 0,008			F = 26,769, p = 0,000		
RI ВСА	0,64 [0,61; 0,66]	0,66 [0,65; 0,67]	0,65 [0,61; 0,68]	0,66 [0,65; 0,68]	0,68 [0,66; 0,70]	0,69 [0,67; 0,71]
	Q = 9,800, p = 0,007			Q = 16,615, p = 0,000		
RI СМА	0,54 [0,52; 0,55]	0,56 [0,55; 0,57]	0,55 [0,54; 0,60]	0,54 [0,53; 0,55]	0,61 [0,57; 0,63]	0,70 [0,58; 0,72]
	Q = 10,400, p = 0,006			Q = 21,385, p = 0,000		

Апостериорные критерии выявили различия между значениями RI ОСА в 2022 году и значениями первой и второй половины 2023 года в I группе ($p < 0,031$); между всеми измерениями в III группе ($p < 0,031$); значениями RI ВСА и RI СМА в 2022 и 2023 годах в I группе ($p = 0,005$); в 2022 году и значениями первой и второй половины 2023 года в III группе ($p < 0,001$).

На момент 2022 года повышенный RI выявлен у одного машиниста из I группы и одного из III группы в СМА – 10,0 % и 15,4 % соответственно. В первой половине 2023 года у машинистов I группы повышенный RI выявлен у одного машиниста (10,0 %) в ОСА и ВСА, у двух – в СМА (20,0 %); у машинистов

III группы – у двух в ОСА (15,4 %), у трех – в ВСА (23,1 %), у семерых – в СМА (53,8 %). Во второй половине 2023 года повышенные RI выявлены уже у двух машинистов I группы (20,0 %) в ОСА и ВСА, у четырех – в СМА (40,0 %); в III группе – у пятерых в ОСА (38,4 %) и четырех – в ВСА (30,7 %), у девятих – в СМА (69,2 %). У остальных работников RI находится в пределах нормальных значений. Стоит отметить, что повышенный RI отражает приспособительные реакции БЦА к условиям повышенного перфузионного давления.

При проведении ХМ ЭКГ параметры ЧСС находились в пределах референсных: среднесуточная – 35–90 уд/мин, среднедневная – 70–90 уд/мин, средненочная – 50–90 уд/мин. Выявлены различия в значениях среднесуточной ЧСС за 2022 год ($T = 3,693$, $p = 0,022$) между группами I, II и III ($p < 0,019$), за период 2023 года различий в значениях показателя не выявлено ($p > 0,05$). Установлены различия в значениях среднедневной ЧСС за 2022 год ($T = 7,518$, $p = 0,000$) между группами I и IV; III и II, IV ($p < 0,029$); за 2023 год ($N = 15,488$, $p = 0,001$) – между группами III и IV ($p = 0,001$). Различий в значениях средненочной ЧСС за 2022 и 2023 годы между исследуемыми группами не выявлено ($p > 0,05$), несмотря на наличие общей тенденции в 2022 году ($F = 3,023$, $p = 0,036$).

При проведении ВЭМ выявлен отрицательный результат теста, на регистрируемой ЭКГ нарушений ритма не выявлено, элевации/депрессии сегмента ST не зарегистрировано во всех исследуемых группах. Показатели АД не превышали референсных значений, принятых за норму на базе проведенного исследования, – 220/110 мм рт. ст., статистически значимые различия между пиковыми показателями АДс и АДд в группах отсутствуют ($p > 0,05$). Проба ВЭМ явилась косвенным признаком повышения АД.

Среднегрупповые максимальные значения офисного АДс/АДд составили: (144,0 ± 4,9) / (91,0 ± 2,8) мм рт. ст. – в I группе; (125,4 ± 4,8) / (83,9 ± 2,8) мм рт. ст. – в II группе, (144,8 ± 5,2) / (90,9 ± 3,1) мм рт. ст. – в III группе, (131,0 ± 4,6) / (86,3 ± 3,2) мм рт. ст. – в IV группе. Таким образом, у 35,4% машинистов выявлена АГ I степени.

Антропометрические данные машинистов I и II группы, переболевших легкой формой COVID-19, следующие: ИМТ (28,3 ± 3,4) кг/м² при росте (181,1 ± 6,8) см и массе (93,2 ± 14,7) кг; из них нормальная масса тела выявлена у 24,2 %, избыточная – у 39,4 %, ожирение I степени – у 36,4 %. Антропометрические данные машинистов III и IV группы, переболевших среднетяжелой/тяжелой формой COVID-19: ИМТ (27,7 ± 3,2) кг/м² при росте (180,1 ± 4,5) см и массе (89,9 ± 11,1) кг; из них нормальная масса тела – у 21,9 %, избыточная – у 25,0 %, ожирение I степени – у 53,1 %. Установлено наличие связи между величиной ИМТ и уровнем АД ($\chi^2(2) = 12,516$, $p = 0,002$): у работников с ожирением АГ встречается чаще, чем у лиц с нормальной и избыточной массой тела, – 60,0 % против 46,7 % и 13,3 % соответственно.

Статистически значимых различий в показателях уровня общего холестерина и липопротеидов высокой плотности между переболевшими разными формами COVID-19 не выявлено ($p > 0,05$), значения не выходят за пределы нормы, принятой на базе проведенного исследования, – 2,9–6,2 ммоль/л и 0,9–2,5 ммоль/л соответственно.

По данным амбулаторных карт установлено, что большая часть работников курит (58,5 %). Индекс курильщика в каждой исследуемой группе составил менее 10, поэтому данный показатель был исключен из анализа данных. Однако учитывая данные возраста, АДс, уровня холестерина и статус курильщика, рассчитан ССР по шкалам SCORE для каждого машиниста. Среди работников всех групп до 50 лет ССР составил менее 7,5 % на момент 2022 года и более 7,5 % на момент 2023 года; ССР среди машинистов до 40 лет составил до 4,0 % за весь указанный период.

Заключение. С помощью объективных кардиологических функциональных методов диагностики установлено, что принявшие участие в исследовании машинисты подвержены структурным и функциональным изменениям показателей ССС, которые достигают более высоких значений в ранний и отдаленный период после заболевания COVID-19. В более раннем постковидном периоде это может быть связано с влиянием вируса на организм, учитывая его патогенез, а в позднем периоде, вероятно, связано с увеличением линейных размеров полости ЛЖ на фоне АГ. Триплексное сканирование на экстракраниальном уровне позволило выявить у части работников девиации БЦА за весь период исследования, которые, вероятно, носят как врожденный, так и приобретенный характер. Определение показателя RI имело более информативный характер: установлено, что у части машинистов на экстра- и интракраниальном уровне RI в большей степени увеличивается в отдаленном периоде после COVID-19, особенно у работников, переболевших COVID-19 в условиях стационара, что может быть связано с течением АГ. По результатам ВЭМ и ХМ ЭКГ за весь период наблюдения во всех исследуемых группах достоверных данных о функциональных нарушениях не выявлено. Установлено наличие связи между величиной ИМТ и уровнем АД: в более чем половине случаев машинисты с ожирением имеют

А.Г. Рассчитанный ССР по шкалам SCORE позволил выявить риск развития фатальных и нефатальных событий, которые составляют менее 4,0 % среди машинистов до 40 лет за весь указанный период, менее 7,5 % среди машинистов старше 40 лет в 2022 году и более 7,5 % в 2023 году.

Таким образом, заболевание новой коронавирусной инфекцией позволило вновь обратить внимание на проблему повышенного АД среди машинистов электропоездов. Длительное динамическое наблюдение выявило ухудшение показателей ССС и дает основание предложить к добавлению в действующий Приказ Минтранса РФ от 19.10.2020 № 428 исследование БЦА наравне с ЭхоКГ, ХМ ЭКГ и ВЭМ, которое позволит улучшить экспертизу трудоспособности машинистов.

Литература

1. Ассоциация профессии с развитием артериальной гипертонии у работников железнодорожной отрасли / Е. А. Жидкова, В. Б. Панкова, М. Ф. Вильк [и др.] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2021. – Т. 20, № 7. – С. 203–210.

2. Анализ причин внезапной смерти среди работников Российской Федерации / Е. А. Жидкова, Е. М. Гутор, К. Г. Гуревич [и др.] // Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. – 2022. – Т. 30, № 4. – С. 497–506.

3. Результаты анализа причин внезапной смерти среди работников локомотивных бригад / Е. А. Жидкова, Н. Б. Найговзина, М. Р. Калинин [и др.] // Кардиология. – 2019. – Т. 59, № 6. – С. 42–47.

4. Risk factors for heart disease in working railwaymen / E. A. Zhidkova, S. V. Shlipakov, V. A. Zaborova [et al.] // American Journal of Men's Health. – 2022. – Vol. 16, № 6. – DOI: 10.1177/15579883221136983.

5. Вновь диагностированные заболевания и частота их возникновения у пациентов после новой коронавирусной инфекции. Результаты международного регистра «Анализ динамики коморбидных заболеваний у пациентов, перенесших инфицирование SARS-CoV-2 (АКТИВ SARS-CoV-2)» (12 месяцев наблюдения) / Г. П. Арутюнов, Е. И. Тарловская, А. Г. Арутюнов [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2023. – Т. 28, № 4. – С. 102–126.

6. Атьков, О. Ю. Ультразвуковая диагностика сердца и сосудов / О. Ю. Атьков, Т. В. Балахонова, С. Г. Горохова. – 2-е изд., доп. и расш. – М. : Эксмо, 2015. – 456 с.

7. Лутра, А. ЭхоКГ понятным языком / А. Лутра ; под ред. Ю. А. Васюка. – М. : Практ. медицина, 2017. – 224 с.

8. Механизмы поражения сердечно-сосудистой системы при COVID-19 / А. Я. Фисун, Ю. В. Лобзин, Д. В. Черкашин [и др.] // Вестник РАМН. – 2021. – Т. 76, № 3. – С. 287–297.

9. Явелов, И. С. COVID-19 и сердечно-сосудистые заболевания / И. С. Явелов // Международный журнал сердца и сосудистых заболеваний. – 2020. – Т. 8, № 27. – С. 4–13.

Gerasimidi S. K.^{1,2}, Glukhov D. V.¹, Eremeeva A. G.¹, Kalinina S. A.¹, Saprykina P. D.³

STUDY OF THE CARDIOVASCULAR SYSTEM IN ELECTRIC TRAIN DRIVERS WITH COVID-19 (18 MONTHS OF FOLLOW-UP)

¹ Federal State Budgetary Institution «Izmerov Research Institute of Occupational Health», Moscow, Russia

² Private Healthcare Institution «N. A. Semashko Clinical Hospital «RZD-MEDICINA», Moscow, Russia

³ Healthcare institution «Hospital «RZD-MEDICINA» in station of Berkakit», Berkakit, Russia

Electric train drivers belong to the risk group for the development of cardiovascular diseases, in particular arterial hypertension. Industrial and non-industrial risk factors, as well as infectious diseases, including COVID-19, contribute to the development of arterial hypertension. Long-term dynamic follow-up revealed in more than half of cases arterial hypertension in obese machinists. Calculation by SCORE scales allowed us to determine the risk of cardiovascular events – less than 4.0 % before 40 years of age, more than 7.5 % over 40 years of age. Changes in the structural and functional indices of the cardiovascular system were detected predominantly in workers who had undergone moderate/severe COVID-19. The study of brachiocephalic arteries with determination of the resistance index has shown itself to be a significant method of assessing the state of the cardiovascular system and can be proposed in the Order of the Ministry of Transport of the Russian Federation dated October 19, 2020 No. 428, which will improve the examination of the working capacity of machinists.

Keywords: electric train drivers, COVID-19, cardiovascular system, medical examinations, resistance index, relaxation impairment.

References

1. Zhidkova E. A., Pankova V. B., Vilks M. F. et al. Association of railway industry occupations with hypertension. *Cardiovasc Ther and Prev.* 2021; 20(7): 203–10. (in Russian)
2. Zhidkova E. A., Gutor E. M., Gurevich K. G. et al. Analysis of causes of sudden death among russian railway workers. *I. P. Pavlov Russ Med Biol Her.* 2022; 30(4): 497–506. (in Russian).
3. Zhidkova E. A., Naigovzina N. B., Kalinin M. R. et al. The Analysis of the causes of sudden deaths among workers of locomotive crews. *Kardiologiya.* 2019; 59(6): 42–7. (in Russian).
4. Zhidkova E. A., Shlipakov S. V., Zaborova V. A. et al. Risk factors for heart disease in working railwaymen. *Am J Mens Health.* 2022; 16(6). DOI: 10.1177/15579883221136983.
5. Arutyunov G. P., Tarlovskaya E. I., Arutyunov A. G. et al. Newly diagnosed diseases and the frequency of their occurrence in patients after a new coronavirus infection. Results of an International Register «Dynamics Analysis of Comorbidities in SARS-CoV-2 Survivors (ACTIV SARS-CoV-2)» (12-month follow-up). *Rossiiskii kardiologicheskii zhurnal.* 2023; 28(4): 102–26. (in Russian)
6. At'kov O. Yu, Balakhonova T. V., Gorokhova S. G. Ultrasound diagnostics of the heart and blood vessels. Moscow: Ehksmo; 2015. (in Russian)
7. Lutra A. Echocardiography in clear language. Moscow: Prakticheskaya meditsina; 2017. 224 p. (in Russian)
8. Fisun A. Ya., Lobzin Yu. V, Cherkashin D. V. et al. Mechanisms of damage to the cardiovascular system in COVID-19. *Ann Russ Acad Medical Sci.* 2021; 76(3): 287–97. (in Russian)
9. Yavelov I. S. COVID-19 and cardiovascular diseases. *Int Heart Vasc Dis J.* 2020; 8(27): 4–13. (in Russian)

e-mail для переписки: sofa4gerasimidi@mail.ru

Поступила 06.11.2024

УДК 616.1-053-07:613.6

Глухов Д. В., Юшкова О. И., Капустина А. В., Форверц А. Ю.

ИНФОРМАТИВНОСТЬ ИНДЕКСА МЫЗНИКОВА В ОЦЕНКЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ РАБОТНИКОВ ЖЕЛЕЗНОДОРОЖНОГО ТРАНСПОРТА В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика
Н. Ф. Измерова», г. Москва, Россия*

Аннотация. Физиологическая оценка донозологических пограничных состояний организма, риска формирования сердечно-сосудистых заболеваний – важная задача физиологии труда. Поиск различных показателей, посвященных оценке сердечно-сосудистой системы, является при этом одной из приоритетных задач физиологии труда. Использование индекса Мызникова, рассчитанного с применением математического метода, позволяет оценить уровень адаптации организма работника к факторам трудового процесса. По результатам физиологических исследований машинистов локомотивов и помощников машиниста на предрейсовых медицинских осмотрах выявлены особенности ответной реакции организма на трудовую нагрузку показателей гемодинамики (артериальное давление диастолическое, артериальное давление среднединамическое). Проведенный индивидуальный анализ показал, что гистограмма индекса Мызникова у работников в возрасте 55–59 лет более однородна по сравнению с группой работников в возрасте 30–34 года. Это свидетельствует о стабильном функциональном состоянии, что подтверждается вегетативным индексом Кердо.

Ключевые слова: машинисты локомотивов, помощники машинистов, сердечно-сосудистая система, физиологические показатели, индекс Мызникова, персонализированный анализ.

Введение. Изучение функционального напряжения и профессионального перенапряжения, разработка информативных методов оценки этих состояний для сохранения здоровья и обеспечения эффективности деятельности работников нервно-напряженного труда – важная проблема физиологии труда. Использование методов донозологической диагностики для выделения лиц с различным

уровнем адаптационных возможностей дает возможность определять риск заболеваний сердечно-сосудистой системы (далее – ССС) [1–3].

Известно, что, несмотря на совершенствование методов диагностики и профилактики атеросклероз-ассоциированных сердечно-сосудистых заболеваний (далее – аССЗ), они остаются основной причиной заболеваемости и смертности [4, 5]. Высокая распространенность артериальной гипертензии (далее – АГ) сохраняется во всем мире независимо от доходов населения. По мере старения людей, перехода к малоподвижному образу жизни, увеличению массы тела распространенность гипертонии во всем мире будет расти.

Взаимосвязь между артериальным давлением, риском формирования преморбидных состояний и сердечно-сосудистыми заболеваниями (далее – ССЗ) является очевидной. Донозологическая диагностика, по мнению В. В. Довгуша и И. Л. Мызникова, требует надежных индивидуальных показателей системы кровообращения (далее – ИПСК), рассчитываемых на основе функциональных закономерностей, что послужило основанием разработки математического метода и использования индекса Мызникова (далее – ИМ) [3, 6].

Для определения функционального состояния работников локомотивных бригад железнодорожного транспорта, труд которых характеризуется чрезмерными нервно-эмоциональными нагрузками [1, 7, 8], особую актуальность приобретает оценка информативных индексов и показателей системы кровообращения с учетом персонализированного подхода.

Цель работы: обосновать применение индекса Мызникова при оценке сердечно-сосудистой системы работников железнодорожного транспорта (машинисты локомотивов и помощники машинистов) с учетом возрастных особенностей.

Материалы и методы. При проведении предсменного (предрейсового) медицинского осмотра обследовались работники железнодорожного транспорта: машинисты локомотивов – 1151 (средний возраст $39,88 \pm 10,27$ лет), помощники машиниста – 1276 (средний возраст $39,98 \pm 10,63$ лет). На основе данных предрейсового медицинского осмотра выделены четыре возрастные группы лиц молодого, среднего и пожилого возраста: 20–29 лет (1), 30–39 лет (2), 40–49 лет (3), 50–59 лет (4) [1].

В работе использовался метод многократного предсменного измерения артериального давления (далее – АД, мм рт. ст.) и других показателей ССС машинистов локомотивов и помощников машинистов железнодорожного транспорта. Для анализа были выбраны следующие показатели гемодинамики: артериальное давление систолическое (далее – АДс, мм рт. ст.), артериальное давление диастолическое (далее – АДд, мм рт. ст.), частота сердечных сокращений (далее – ЧСС, уд/мин), артериальное давление пульсовое (мм рт. ст.), артериальное давление среднечастотное (мм рт. ст.), минутный объем крови (далее – МОК, мл), периферическое сопротивление сосудов (дн·с·см⁻⁵) [1].

По показателям гемодинамики математический метод позволил определить показатели системы кровообращения (далее – ПСК) с помощью формул, в которых в качестве переменных членов использовали величины ЧСС и АД, определить ИМ. Математический метод предусматривает по рассчитанным значениям ИМ выделять уровни адаптации к факторам трудового процесса и производственной среды.

Индекс Мызникова используется для определения следующих уровней адаптации: дезадаптация, удовлетворительная адаптация к условиям окружающей среды, обусловленная достаточными функциональными возможностями организма; функциональное напряжение, которое выражается в активизации систем нейрогуморальной регуляции для выработки количества энергии, необходимого организму в условиях стресса. Перенапряжение физиологических систем обусловлено истощением функционального резерва и резким снижением функциональных возможностей организма [1, 3].

Вегетативный индекс Кердо (далее – ВИК) использовался для определения состояния вегетативной нервной системы (далее – ВНС). Положительное значение ВИК указывало на преобладание симпатического, а отрицательное значение – парасимпатического тонуса вегетативной нервной системы, нулевое значение ВИК – на баланс отделов [1].

Статистическая обработка полученных данных проводилась с применением программного обеспечения IBM SPSS Statistics 26.

Результаты и их обсуждение. В настоящее время массовыми профессиями признаются операторские, включая профессии водителей различного вида транспорта. К этому виду деятельности относятся машинисты локомотивов и помощники машинистов. Общим для операторских, водительских профессий является то, что выполняемая работа предъявляет большие требования к восприятию, мышлению, эмоциональной сфере и другим психическим процессам. Это вызывает большое

умственное и эмоциональное напряжение, крайняя степень которого (перенапряжение) может отрицательно сказаться на выполнении профессиональных обязанностей, снижать безопасность движения на железнодорожном транспорте. Согласно документу Р 2.2.2006-05, работа машинистов считается трудом с вредным 3 классом 2 степени по уровню напряженности. В свою очередь, труд помощников машинистов характеризуется небольшим объемом входящей и обрабатываемой информации, а также выполнением простых производственных задач. Общая оценка напряженности трудового процесса показала, что труд данной профессиональной группы соответствует 2 классу. Для работников операторских профессий, таких как машинисты и помощники машинистов локомотивов, в настоящее время характерно длительное удерживание неблагоприятной рабочей позы «сидя».

Корреляционные исследования продемонстрировали прямую взаимосвязь индекса Мызникова с интегральным показателем напряженности трудового процесса ($r = 0,387$ при $p \leq 0,05$), тяжестью труда ($r = 0,420$; $p \leq 0,05$) и рабочей позой ($r = 0,350$; $p \leq 0,05$). Эти результаты указывают на возможность применения индекса Мызникова для оценки уровня адаптации работников к факторам, связанным с трудовым процессом.

В ходе исследований у машинистов и помощников машинистов локомотивов в четырех возрастных группах были обнаружены статистически значимые различия ($p < 0,02$) по показателям гемодинамики, таким как АДд и АДс. Уровни АДс у машинистов и помощников оставались в пределах физиологической нормы (130 и 140 мм рт. ст.) для всех возрастных групп, включая пожилых людей. Однако повышенные значения среднего АД были отмечены, в частности, у лиц в возрасте 50–59 лет, что свидетельствует о риске развития АГ. Также было установлено, что МОК последовательно уменьшался с возрастом, а периферическое сопротивление сосудов у работников локомотивных бригад возрастало, что является неблагоприятным признаком, указывающим на ухудшение состояния ССС.

Однофакторный дисперсионный анализ гемодинамических показателей с использованием критерия Фишера выявил статистически значимые различия среди машинистов и помощников локомотивов в четырех возрастных группах по следующим параметрам: ЧСС между группами 1 и 4, АДд между всеми группами, АДс между группами 1 и 3.

Для оценки уровня адаптации организма к факторам трудового процесса и производственной среды были рассчитаны интегральные показатели по гемодинамическим параметрам. С применением математического метода были определены ИПСК и коэффициент соответствия (далее – КСим) с фактическим значением ИМ.

Коэффициент демонстрирует, насколько ИМ превышает нормативные значения, что дает возможность сопоставить его с диагностическими критериями функциональных состояний работников различных профессиональных групп, основанными на величине индекса [6]. При этом выделяются следующие уровни адаптации к условиям трудовой деятельности и производственной среды: состояние дезадаптации характеризуется крайне низкими значениями ИМ (до 86,2 условной единицы) и значениями ниже среднего (от 86,3 до 102,8 условной единицы). Удовлетворительным уровнем адаптации считается диапазон значений ИМ от 102,9 до 136,1 условной единицы. Функциональное напряжение оценивается по значениям ИМ в пределах от 136,2 до 152,8 условной единицы, а перенапряжение физиологических систем фиксируется, если значение превышает 152,8 условной единицы.

В таблице 1 представлены результаты математического анализа для определения ИПСК и коэффициентов соответствия с фактическим значением (КСим). Данные представлены в виде средних арифметических значений с указанием стандартных отклонений ($M \pm \sigma$) для машинистов различных возрастных групп, также представлены уровни статистической значимости, полученные в процессе сравнения исследуемых показателей.

Выявлены следующие статистически значимые различия в показателях ИМ по результатам однофакторного дисперсионного анализа по критерию Фишера: ИМ между группами (1) и (3), (4) $F(3,1148) = 21,771$, $p = 0,000$; коэффициент соответствия симуляции (КСим) между группами (1), (2), (3) и (4) $F(3,1148) = 39,808$, $p = 0,000$; изменение ИМ между всеми возрастными группами $F(3, 1148) = 39,808$, $p = 0,000$.

По данным физиологических исследований у машинистов в возрастной группе 20–29 лет было зафиксировано более высокое значение ИМ ($(119,59 \pm 10,54)$ усл. ед.) по сравнению с другими возрастными группами. Тем не менее все значения ИМ оставались в пределах диапазона, указывающего на удовлетворительный уровень адаптации организма к факторам трудового процесса и производственной среды.

Таблица 1 – Изменения показателей индекса Мызникова у машинистов локомотивов (I) и помощников машинистов (II) четырех возрастных групп ($M \pm \sigma$)

Показатели		Группа 20–29 лет (n = 263) (1)	Группа 30–39 лет (n = 300) (2)	Группа 40–49 лет (n = 300) (3)	Группа 50–59 лет (n = 289) (4)
ИМ, усл. ед.	(I)	119,59 ± 10,54	117,62 ± 2,32	115,56 ± 9,49 $P_{1-3} \leq 0,000$ $P_{2-3} \leq 0,000$	113,35 ± 10,97 $P_{1-4} \leq 0,000$ $P_{2-4} \leq 0,000$ $P_{3-4} \leq 0,000$
	(II)	120,51 ± 10,49	117,89 ± 10,65 $P_{1-2} \leq 0,015$	115,25 ± 11,11 $P_{1-3} \leq 0,000$ $P_{2-3} \leq 0,000$	114,55 ± 10,5 $P_{1-4} \leq 0,000$ $P_{2-4} \leq 0,000$
КСим, %	(I)	106,42 ± 9,06	104,48 ± 8,85 $P_{1-2} \leq 0,000$	101,69 ± 8,32 $P_{1-3} \leq 0,000$ $P_{2-3} \leq 0,000$	98,76 ± 9,22 $P_{1-4} \leq 0,000$ $P_{2-4} \leq 0,000$ $P_{3-4} \leq 0,000$
	(II)	107,36 ± 8,73	104,83 ± 9,45 $P_{1-2} \leq 0,000$	101,56 ± 9,41 $P_{1-3} \leq 0,000$ $P_{2-3} \leq 0,000$	99,61 ± 8,77 $P_{1-4} \leq 0,000$ $P_{2-4} \leq 0,000$ $P_{3-4} \leq 0,000$
Изменение ИМ, %	(I)	6,42 ± 9,06	4,48 ± 8,85 $P_{1-2} \leq 0,000$	1,69 ± 8,32 $P_{1-3} \leq 0,000$ $P_{2-3} \leq 0,000$	-1,24 ± 9,22 $P_{1-4} \leq 0,000$ $P_{2-4} \leq 0,000$ $P_{3-4} \leq 0,000$
	(II)	7,36 ± 8,73	4,83 ± 9,45 $P_{1-2} \leq 0,000$	1,56 ± 9,41 $P_{1-3} \leq 0,000$ $P_{2-3} \leq 0,000$	-0,39 ± 8,77 $P_{1-4} \leq 0,000$ $P_{2-4} \leq 0,000$ $P_{3-4} \leq 0,000$
Примечание – P – достоверность изменения параметров между изучаемыми группами.					

У помощников машинистов значения ИМ указывают также на формирование состояния удовлетворительной адаптации к условиям труда и трудового процесса.

Персонализированный анализ физиологических показателей выявил соответствие ИМ стадии функционального напряжения (выше 136,2 усл. ед.) у машинистов в возрасте 20–29 лет – в 5,32 % случаев, 30–39 лет – в 2,33 % случаев, 40–49 лет – в 1,33 %, 50–59 лет – в 2,01 % случаев. У помощников машинистов наблюдались показатели ИМ выше среднего у 8,3 % лиц в возрасте 20–29 лет; 3,6 % – 30–39 лет; 2,3 % – 40–49 лет; 2,4 % – 50–59 лет.

На основе данных предсменного медицинского обследования был проведен индивидуальный анализ вычисленных значений ИМ у машинистов разных возрастных групп: 30–34 и 50–59 лет в течение всего рабочего цикла с 1 января по 31 декабря. В ходе индивидуального анализа было установлено, что у работников возрастной группы 55–59 лет наблюдается более равномерное распределение значений ИМ по сравнению с молодыми специалистами в возрасте 30–34 лет. Это равномерное распределение может указывать на то, что более старшая группа имеет более стабильное и предсказуемое функциональное состояние. Дополнительным подтверждением этой стабильности служит вегетативный индекс Кердо, который также подчеркивает хорошую гармонию между вегетативными функциями организма у работников старшего возраста. В целом результаты исследования могут указывать на более высокую устойчивость и адаптивные способности старших сотрудников по сравнению с их молодыми коллегами.

Таким образом, применение ИМ в рамках математического метода относится к методам донозологической диагностики, которые направлены на выявление лиц с различными уровнями адаптации к факторам трудового процесса и производственной среды, что позволяет оценивать риск возникновения заболеваний. Известно, что донозологические или пограничные состояния могут наблюдаться у практически здоровых людей, не находящихся под медицинским наблюдением, пока они не обратятся к врачу с признаками какого-либо заболевания [3]. В контексте профилактической медицины диагностика донозологических состояний предполагает использование физиологических методов и показателей для оценки уровня адаптации организма к факторам трудовой деятельности и производственной среды.

Персонализированный анализ результатов физиологических исследований выявил функциональное напряжение у машинистов, у которых значение ИМ превышало 136,2 условной единицы, в 11,0 % случаев, а у помощников машинистов – в 16,7 % случаев.

В настоящее время имеются убедительные физиологические доказательства, подтверждающие благоприятное влияние физической активности на сердечно-сосудистую систему. Физические упражнения, выполняемые систематически, оказывают благоприятное влияние на факторы риска ССЗ (такие как гипертоническая болезнь, гиперхолестеринемия, ожирение и др.). Все виды тренировок: аэробные (непрерывная ходьба, бег трусцой, езда на велосипеде и т. д.), силовые упражнения (с отягощением), физическая рекреационная активность (прогулочная ходьба, садоводство и др.) [9] – предотвращают развитие всех факторов риска ССЗ, задерживают прогрессирование поражений органов-мишеней [4].

Заключение. Профессиографическими исследованиями трудовой деятельности установлено воздействие факторов напряженности и тяжести труда (классы от 2 до 3.2) на психофизиологическое состояние работников локомотивных бригад. В качестве индикаторов нервно-эмоционального напряжения человека рекомендуется большое количество разнообразных физиологических показателей. В качестве критериев оценки степени функционального напряжения организма в эмоциогенных ситуациях используются характер и величина физиологических сдвигов в организме [7, 8, 10]. Однако применительно к трудовой деятельности человека вопрос об информативности многих физиологических показателей и возможности их применения в качестве меры нервно-эмоционального напряжения не решен.

В связи с этим актуальным можно считать обоснование физиологической оценки сердечно-сосудистой системы работников нервно-эмоционального труда с использованием ИМ в зависимости от возрастных характеристик.

По результатам проведенных исследований у машинистов и помощников машинистов в четырех возрастных группах были выявлены статистически значимые различия в показателях гемодинамики ($p < 0,02$). Уровни ИМ свидетельствуют о состоянии функционального напряжения в 11,0–16,7 % случаев. Индивидуальный анализ показал, что гистограмма значений ИМ у работников в возрасте 55–59 лет более однородна по сравнению с группой 30–34 лет, что указывает на стабильное функциональное состояние, что также подтверждается данными ВИК.

Машинисты и помощники машинистов железнодорожного транспорта представляют собой группу повышенного риска перенапряжения и развития заболеваний сердечно-сосудистой системы, что подчеркивает необходимость коррекции их функционального состояния для сохранения трудового потенциала и здоровья работников.

Сведения о НИР. НИР «Совершенствование критериев и методов оценки факторов трудового процесса на основе персонализированного подхода», регистрационный номер 0408-2022-0009.

Литература

1. Физиологическая оценка функционального состояния работников нервно-эмоционального труда различного возраста по результатам предсменного контроля / Д. В. Глухов, О. И. Юшкова, А. В. Капустина [и др.] // Медицина труда и промышленная экология. – 2024. – № 6. – С. 378–386.
2. Baevsky, R. M. Heart rate variability analysis: physiological foundations and main methods / R. M. Baevsky, A. G. Chernikova // *Cardiometry*. – 2017. – № 10. – С. 66–76.
3. Казначеев, В. П. Донозологическая диагностика в практике массовых обследований населения / В. П. Казначеев, Р. М. Баевский, А. П. Берсенева. – Л. : Медицина, 1980. – 207 с.
4. Обрезан, А. Г. Управление факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний / А. Г. Обрезан, Е. К. Сережина. – М. : ГЕОТАР-Медиа, 2023. – 184 с.
5. Потребность в назначении гипополипидемической терапии в российской популяции: сравнение шкал SCORE и SCORE2 (по данным исследования ЭССЕ-РФ) / А. М. Ерина, Д. А. Усольцев, М. А. Бояринова [и др.] // Российский кардиологический журнал. – 2022. – Т. 27, № 5. – С. 7–13.
6. Довгуша, В. В. Отдых на этапах учебно-боевой деятельности подводников: пособие для врачей ВМФ / В. В. Довгуша, И. Л. Мызников. – 2-е изд. испр. и доп. – СПб. : ООО «Пресс-Сервис» ФГУ «НИИ промышленной и морской медицины» ФМБА РФ, 2010. – 224 с.
7. Физиологические особенности формирования психоэмоционального перенапряжения у работников умственного труда и его профилактика / И. В. Бухтияров, О. И. Юшкова, В. В. Матюхин [и др.] // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2014. – Т. 100, № 11. – С. 1324–1334.

8. Роль физиологии труда в сохранении работоспособности и здоровья у работников различных видов трудовой деятельности. Достижения и перспективы развития / В. В. Матюхин, И. В. Бухтияров, Э. Ф. Шардакова [и др.] // Медицина труда и промышленная экология. – 2013. – № 6. – С. 19–24.

9. Exercise training: the holistic approach in cardiovascular prevention / F. Giallauria, T. Strisciuglio, G. Cuomo [et al.] // High Blood Pressure & Cardiovascular Prevention. – 2021. – Vol. 28, № 6. – P. 561–577.

10. Психофизиологические основы профилактики перенапряжения / Ю. В. Мойкин, А. И. Киколов, В. И. Тхоревский, Л. Е. Милков. – М. : Медицина, 1987. – 256 с.

Glukhov D. V., Yushkova O. I., Kapustina A. V., Forverts A. Yu.

INFORMATIVENESS OF THE MYZNIKOV INDEX IN ASSESSING THE FUNCTIONAL STATE OF THE CARDIOVASCULAR SYSTEM OF RAILWAY TRANSPORTATION WORKERS IN THE AGE ASPECT

*Federal State Budgetary Scientific Institution «Izmerov Research Institute of Occupational Health»,
Moscow, Russia*

Physiological assessment of prenosological borderline states of the organism, risk of cardiovascular disease formation is an important task of labor physiology. The search for various indicators devoted to the assessment of the cardiovascular system is one of the priority tasks of labor physiology. The use of Myznikov index, calculated with the use of mathematical method, allows to estimate the level of adaptation of the worker's organism to the factors of the labor process. According to the results of physiological studies of locomotive drivers and driver's assistants at pre-trip medical examinations the peculiarities of the organism's response to the labor load of hemodynamic parameters (diastolic blood pressure, mean dynamic blood pressure) were revealed. The individual analysis showed that the histogram of Myznikov index in workers aged 55–59 years is more homogeneous in comparison with the group of workers aged 30–34 years. This indicates a stable functional state, which is confirmed by the Kerdo vegetative index.

Keywords: locomotive drivers, assistant drivers, cardiovascular system, physiological indices, Myznikov index, personalized analysis.

References

1. Glukhov D. V., Yushkova O. I., Kapustina A. V. et al. Physiological assessment of the functional state of neuroemotional labor workers of different ages according to the results of pre-shift monitoring. *Russ J Occup Health Ind Ecol*. 2024; 6: 378–86. (in Russian)

2. Baevsky R. M., Chernikova A. G. Heart rate variability analysis: physiological foundations and main methods. *Cardiometry*. 2017; 10: 66–76.

3. Kaznacheev V. P., Baevskij R. M., Berseneva A. P. Prenosological diagnostics in the practice of mass population surveys. L.: Meditsina; 1980. (in Russian)

4. Obrezan A. G., Serezhina E. K. *Management of cardiovascular risk factors*. Moscow: GEOTAR-Media; 2023. (in Russian)

5. Erina A. M., Usol'cev D. A., Boyarinova M. A. et al. Need for prescription of hypolipidemic therapy in the Russian population: comparison of SCORE and SCORE2 scales (based on the ESSE-RF study). *Rosj Kardiolog Zhurn*. 2022; 5: 7–13. (in Russian)

6. Dovgusha V. V., Myznikov I. L. *Rest at the stages of training and combat activities of submariners: a manual for Navy doctors*. 2th ed. SPb.: OOO «Press-Servis» FGU «NII promyshlennoj i morskoy mediciny» FMBA RF; 2010. (in Russian)

7. Buhtiyarov I. V., Yushkova O. I., Matyuhin V. V. et al. Physiological peculiarities of psychoemotional overstrain formation in mental labor workers and its prevention. *Ros Fiziologich Zhurn Im. I. M. Sechenova*. 2014; 100(11): 1324–34. (in Russian)

8. Matyuhin V. V., Buhtiyarov I. V., Shardaikova E. F. et al. The role of labor physiology in preserving working capacity and health in workers of various types of labor activity. Achievements and prospects of development. *Russ J Occup Health Ind Ecol*. 2013; 6: 19–24. (in Russian)

9. Giallauria F., Strisciuglio T., Cuomo G. et al. Exercise training: the holistic approach in cardiovascular prevention. *High Blood Press Cardiovasc Prev*. 2021; 28(6): 561–77.

10. Mojkin Yu. V., Kikolov A. I., Thorevskij V. I. *Psychophysiological bases of overstrain prevention*. Moscow: Meditsina; 1987. (in Russian)

e-mail для переписки: ft-matyuhin@mail.ru

Поступила 07.10.2024

Клебанов Р. Д., Мадекша И. В., Николаева Е. А., Гутич Е. А.

АНАЛИЗ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ С ВРЕМЕННОЙ УТРАТОЙ ТРУДОСПОСОБНОСТИ РАБОТНИКОВ ЛИТЕЙНОГО ПРОИЗВОДСТВА

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. В статье представлены результаты анализа заболеваемости с временной утратой трудоспособности (далее – ЗВУТ) круглогодичных работников, занятых во вредных и (или) опасных условиях труда литейного производства предприятия машиностроения. Изучена динамика и структура ЗВУТ, определена связь нарушений состояния здоровья с условиями труда по показателям относительного риска и этиологической доли.

Ключевые слова: условия труда, показатели временной нетрудоспособности, заболеваемость с временной утратой трудоспособности, относительный риск, этиологическая доля.

Введение. Литейное производство является важнейшим в машиностроительной отрасли, в котором занято значительное количество работающих. В настоящее время это частично механизированное и автоматизированное производство, но на многих предприятиях машиностроения в литейных цехах применяются ручной или маломеханизированный способы формовки, характеризующиеся высокой интенсивностью труда [1]. Основными вредными факторами производственной среды и трудового процесса в литейном производстве являются шум, вибрация, нагревающий микроклимат, кремний-содержащая пыль, химические вещества – углерода оксид, азота оксиды, серы диоксид, пары тяжелых металлов, акролеин, физические нагрузки [2]. В связи со спецификой технологического процесса на работников литейных производств одновременно воздействуют различные производственные факторы, которые могут приводить к развитию профессиональных, производственно обусловленных заболеваний, а также способствуют формированию высоких показателей заболеваемости с временной нетрудоспособностью.

Изучение заболеваемости с временной утратой трудоспособности работников литейного производства является актуальным, так как раннее выявление и профилактика заболеваний, ассоциированных с вредными условиями труда, является приоритетной мерой сохранения здоровья и продления трудового долголетия работающих.

Цель работы – изучение условий труда и состояния здоровья по материалам заболеваемости с временной нетрудоспособностью.

Материалы и методы. Исследования выполнены в литейных цехах (далее – ЛЦ), где в соответствии с проведенной комплексной гигиенической оценкой условий труда (Санитарные нормы и правила «Гигиеническая классификация условий труда», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 28 декабря 2012 года № 211) 63 % работников заняты в неблагоприятных условиях труда. Условия труда 25,5 % работников оценены классом 3.1 (вредные 1 степени), 25,1 % работников – классом 3.2 (вредные 2 степени), по 12,4 % работников – классом 3.3 (вредные 3 степени) и 3.4 (вредные 4 степени).

Изучение состояния здоровья по материалам ЗВУТ проводили за период с 2020 по 2022 год. Полученные данные по ЗВУТ характеризовали заболеваемость круглогодичных работающих общей численностью 1100 человек, из которых 76 % составили работники литейных цехов (основная группа) и 24 % – работники заводоуправления (контрольная группа), суммарное число случаев заболеваний составило более 6000.

Для изучения ЗВУТ разработан алгоритм сбора, отбора, корректировки и первичной обработки информации о случаях заболеваний и списках работников для формирования основной и контрольной групп. Сформированные группы работников, занятых во вредных и (или) опасных условиях труда, были условно обозначены кодами: код 01 – стерженщики, формовщики, сушильщики; код 02 – обрубщики, выбивальщики; код 03 – сталевары, литейщики; код 04 – слесари, электромонтеры; код 05 – линейный персонал; код 06 – иные рабочие профессии; контрольная группа обозначена кодом 07 – управление главного конструктора.

Анализ ЗВУТ работников осуществлялся за трехлетний период с 2020 по 2022 год в соответствии с Методическими указаниями № 112-9911-99 «Углубленный анализ заболеваемости с временной

утратой трудоспособности» методом полицейского анализа [3]. Основной группой работников при полицейском анализе явились «круглогодичные работники» (далее – КГР), «принятые» и «уволенные», критерием отбора КГР – работа с 1 января по 31 декабря изучаемого года.

Основной полицейского анализа явился подготовленный табличный материал, который представлен в виде разных по содержанию блоков, каждый из которых содержит ряд таблиц, отражающих динамику трудопотерь с учетом стажа, профессии; распределение работников в группах по возрасту, стажу, частоте болевших; число неболевших, часто и длительно болевших; данные по общим показателям ЗВУТ, а также особенностям временной нетрудоспособности (далее – ВН) по классам и нозологиям и другое.

Результаты и их обсуждение. В ходе исследования, направленного на изучение ЗВУТ работников, занятых в литейных цехах, установлено следующее. Анализ состава работников показал, что возраст 10,6 % из них составлял 20–29 лет, работников в возрасте до 20 лет – 0,2 %. В среднем 27,8 % работников находятся в возрасте 30–39 лет и 26,9 % – в возрасте 40–49 лет, лица в возрасте 50 лет и старше составили самую многочисленную группу – 34,5 %. Более молодые работники – это формовщики: 50,7 % в возрасте до 40 лет. В контроле 36,4 % – работники до 40 лет и 63,6 % – старше 40 лет. Стажевой состав характеризуется преобладанием высокостажированных работников: 18,7 % работников со стажем 1–4 года и 11,4 % – со стажем 5–9 лет; 70 % работников ЛЦ имели стаж 10 лет и более, причем у 26 % работников стаж 20 лет и более. Для ЛЦ характерен гендерный состав: свыше $\frac{2}{3}$ – это лица мужского пола, а среди литейщиков, обрубщиков, сталеваров, электриков, сварщиков, слесарей женщин-работниц практически нет.

Анализ динамики ВН выявил рост трудопотерь в основной группе по числу болевших лиц (далее – БЛ) с 53,4 % в 2020 г. до 57,2 % в 2022 г. соответственно, по числу случаев с 111,4 до 125,9 на 100 работающих при незначительных изменениях числа дней ВН (таблица 1). В контроле также определялся рост ВН: по числу БЛ с 62,2 до 69,7 %, случаев с 140,4 до 173,9 и дней – с 1696,0 до 1765,2 в 2022 г. В отдельных стажевых группах значимые изменения отмечены у работников со стажем 5–9 лет: число БЛ увеличилось с 56,2 % в 2020 г. до 64,5 % в 2022 г., а число случаев возросло с 126,5 до 166,1 у работников со стажем 1–4 года. Более высокие показатели ЗВУТ были у работников основных профессий со стажем работы 1–4 года и по числу болевших лиц – 57,2 %, по числу случаев – 126,5. Эти показатели ВН у рабочих со стажем 5–9 лет – 122,9 случая и ниже у более стажированных – 105,2 случая. В 2021–2022 гг. закономерностей изменения ЗВУТ у рабочих с разным стажем не выявлено. Так, в 2021 г. процент БЛ практически не изменился в стажевых группах, число случаев снизилось в 2021–2022 гг., а число дней выросло в 2021 и 2022 гг.

Таблица 1 – Динамика ЗВУТ с учетом стажа работников, числа БЛ, случаев и дней

Годы	Показатели	Основные профессии (01–06)			Условный контроль (07)			Итого (код профессии)	
		1–4 года	5–9 лет	10 лет и более	1–4 года	5–9 лет	10 лет и более	01–06	07
2020	БЛ	57,2	56,2	51,7	74,8	54,8	61,5	53,4	62,2
	случаи	126,5	122,9	105,2	140,4	135,5	140,7	111,4	140,4
	дни	1488,0	1716,2	1412,8	1580,6	1587,1	1730,2	1472,2	1696,0
2021	БЛ	54,0	54,1	52,3	69,2	59,4	66,5	52,8	65,8
	случаи	150,4	113,5	112,3	200,0	146,9	151,1	119,1	155,7
	дни	1557,5	1706,2	1439,6	3042,3	1850,0	1706,4	1492,5	1866,2
2022	БЛ	63,4	64,5	54,6	71,7	75,0	68,3	57,2	69,7
	случаи	166,1	132,3	115,0	208,7	228,1	155,9	125,9	173,9
	дни	1699,1	1774,2	1299,8	2037,0	2128,1	1635,5	1418,1	1765,2

Анализ ЗВУТ с учетом стажа выявил некоторые особенности ВН, а именно: процент болевших в связи с COVID-19 вырос с 11,8 % (стажевая группа 1–9 лет) до 13,2 % у наиболее стажированных (стаж 15 лет и более), число случаев ВН увеличилось с 11,8 у менее стажированных до 13,7 в группе работников со стажем 15 лет и более. По заболеваниям сердечно-сосудистой системы у работников ЛЦ № 1 число БЛ выросло с 4 % у малостажированных до 6,5–6,8 % при стаже более 10 лет, числу случаев ВН – с 5,4 до 8,5 у стажированных, в целом по ЛЦ процент БЛ с увеличением стажа вырос с 3,6 до 4,8 %, а число дней – с 51,1 до 84,6. Число случаев болезней органов дыхания снизилось по ЛЦ с 55,9 у работников

со стажем 1–9 лет до 30,1 у работников со стажем 15 лет и более; снизились по данному классу болезней и процент болевших лиц, и число дней ВН.

Показатели ЗВУТ оказались выше в группе контроля, чем в ЛЦ, по COVID-19 с превышением по числу болевших в 1,89 раза, числу случаев ВН – в 1,91 и по числу дней – в 1,98 раза. Общие трудовые потери по ВН, включая уход за больными, выше в контроле – 58,2 % БЛ, 106,4 случая и 1341,4 дня, а по литейным цехам – 47,6 % БЛ, 90,9 случая и 1184,4 дня. По болезням сердечно-сосудистой системы, костно-мышечного аппарата, новообразованиям, травмам, показатели ВН по ЛЦ выше, чем в контроле. Так, процент БЛ по болезням костно-мышечной системы оказался по ЛЦ 10,6 %, число случаев ЗВУТ – 14,0 и дней – 164,9 на 100 работников, а в контроле соответственно 6,8 %, 8,5 случая и 99,0 дня ВН. Число работников ЛЦ с сердечно-сосудистой патологией также выше, чем в контроле: БЛ соответственно 4,1 и 3,4 %, а число случаев ВН – 4,9 и 3,7. Более высокие показатели ВН в основной когорте по опухолям: 0,6 % БЛ у литейщиков и 0,3 % – в контроле, по числу случаев – 0,7 и 0,4 соответственно; по травмам – более высокие, почти в два раза, показатели у литейщиков, чем в контроле.

Рассматривая ВН отдельно по ЛЦ, можно отметить рост ВН с увеличением стажа, что подтверждается и длительностью случаев ВН. Так, по ЛЦ № 1 тяжесть случаев COVID-19 увеличилась с 13,9 дня в группе 1–4 года до 17,7 дня – в группе 15 лет и более, по болезням костно-мышечной системы соответственно – 8,1 и 12,4 дня. А длительность ВН по травмам, напротив, снизилась с увеличением стажа, что связано с более высокой квалификацией, ростом профессионального, жизненного опыта. По ЛЦ № 2 отмечен и рост длительности случаев по болезням органов кровообращения: с 6,5 дня у лиц со стажем 1–9 лет до 10,3 дня при стаже 10–14 лет и 19,1 дня – у высокостажированных. В ЛЦ № 3 наблюдается рост тяжести заболеваний с увеличением стажа по ковидной инфекции (с 14,5 до 18,0 дня ВН), болезням сердечно-сосудистой системы (с 7,1 до 20,3), костно-мышечной системы (с 9,3 до 17,0 дня ВН).

Увеличение тяжести заболеваний с ростом стажа установлено и суммарно по ЛЦ: с 14,8 до 18,3 дня по ковидной инфекции, сердечно-сосудистой патологии – с 11,8 до 14,8 дня ВН, с 9,4 до 13,3 дня по заболеваниям костно-мышечной системы; также увеличилась средняя продолжительность случая: 11,5 дня у литейщиков со стажем 1–9 лет, 13,0 дня при стаже 10–14 лет и 14,3 дня среди наиболее стажированных. В контроле такой зависимости не выявлено или она не выражена: например, по заболеваниям сердечно-сосудистой системы при стаже 1–9 лет продолжительность случая ВН составила 23,0 дня и при стаже 15 лет и более – 21,2 дня.

В таблице 2 приведены данные анализа особенностей ВН в разрезе профессий работников литейного производства. Наиболее высокий уровень ковидной инфекции отмечен в контрольной группе, далее высокие показатели по COVID-19 наблюдаются среди слесарей-ремонтников, а самые низкие показатели – у литейщиков. Установлены высокие показатели БЛ и числа случаев по болезням органов кровообращения по всем основным группам, кроме 01, а по болезням органов дыхания все показатели ВН значительно выше в контроле, чем по ЛЦ. Частота и тяжесть заболеваний костно-мышечной системы заметно выше среди работников основных профессий: по числу БЛ, например, до 19,8 при 6,7 % в контроле. Наиболее высокие показатели по БЛ (12,1–19,8 %), случаям (17,1–31,3) и дням (167–294) в группах 01–03, с более неблагоприятными условиями труда у наждачников, обрубщиков, выбивальщиков по показателям: шум (класс 3.2 и 3.3), кремнийсодержащая пыль (3.1 и 3.2), тяжесть трудового процесса (класс 3.2). Показатели травматизма по основным профессиям (до 26,6 случая и до 453,6 дня ВН) выше, чем в контроле – 4,6 случая и 138,4 дня; ВН по уходу за больными у работников основных профессий равна по числу случаев от 23,3 до 36,6 и дней – от 192,0 до 366,7; в контроле – 53,2 случая и 412,1 дня.

Таблица 2 – Показатели по основным классам ВН у работников литейного производства

Классы болезней, коды	Показатели ЗВУТ	Профессиональные группы работников, код				
		01	02	03	04	07
01–04. Некоторые инфекции (COVID-19)	БЛ	11,5	12,0	8,1	15,2	23,4
	случаи	11,8	12,0	8,1	15,7	24,2
	дни	191,2	187,0	97,8	284,9	429,5
21–30. Болезни органов кровообращения	БЛ	2,4	5,2	3,2	5,2	3,1
	случаи	2,9	5,7	4,3	6,8	3,7
	дни	22,4	42,2	836,3	108,3	80,8
32–38. Болезни органов дыхания	БЛ	28,8	30,7	26,9	27,2	38,7
	случаи	48,6	47,9	37,1	39,0	56,5
	дни	498,2	437,0	336,6	354,2	496,8

Классы болезней, коды	Показатели ЗВУТ	Профессиональные группы работников, код				
		01	02	03	04	07
40–46. Болезни органов пищеварения	БЛ	1,5	3,7	1,6	2,9	1,4
	случаи	1,8	4,2	1,6	4,5	1,7
	дни	12,1	29,2	6,5	111,3	25,0
51–54. Болезни костно-мышечной системы	БЛ	12,1	19,8	15,1	8,7	6,7
	случаи	17,1	31,3	17,7	9,7	8,4
	дни	166,7	293,8	208,6	115,9	99,0
66–76. Травмы	БЛ	7,7	20,8	11,8	8,0	4,3
	случаи	8,3	26,6	15,1	8,7	4,6
	дни	268,7	453,6	281,7	186,8	138,4
01–78. Итого	БЛ	46,9	60,4	50,5	50,5	58,3
	случаи	99,7	142,7	86,0	92,6	107,9
	дни	1227	1738	1033	1313	1356
84. Уход за больными	БЛ	18,3	15,6	21,5	14,0	19,8
	случаи	31,3	24,5	36,6	23,3	53,2
	дни	366,7	181,8	258,6	192,0	412,1

В общую структуру ЗВУТ у работников, занятых в литейном производстве, наибольший вклад внесли болезни органов дыхания – 48,6 случая и 498,2 дня. На втором ранговом месте по показателям болезней традиционно расположились болезни костно-мышечной системы, удельный вклад которых в общую структуру ЗВУТ составил 17,1 случая ВН и 166,7 дня. Расчет показателей относительного риска (далее – ОР) и этиологической доли (далее – ЭД) отразил высокую степень производственной обусловленности болезней костно-мышечной системы ($ОР_{сн} = 2,04$, $ЭД_{сн} = 50,98$ %). В связи с повсеместным распространением COVID-19 в 2020–2022 гг. наблюдаются высокие уровни коронавирусной инфекции: 11,8 случая и 191,2 дня, что позволило данному виду заболеваний расположиться на третьем ранговом месте. Четвертое место в структуре ЗВУТ пришлось на травмы – 8,3 случая и 268,7 дня, преимущественно за счет изолированных переломов и вывихов верхних и нижних конечностей, а также изолированных травм мягких тканей верхних и нижних конечностей. Расчет показателей относительного риска и этиологической доли отразил среднюю степень производственной обусловленности по травмам ($ОР_{сн} = 1,80$, $ЭД_{сн} = 44,44$ %). Пятое место – болезни органов кровообращения как по числу случаев ВН – 2,9, так и по количеству дней ВН – 22,4. Болезни органов пищеварения заняли шестое место в общей структуре заболеваемости – 1,8 случая и 12,1 дня.

Закключение. Динамика ЗВУТ выявила рост трудопотерь у работников литейного производства (основная группа) по числу БЛ с 53,4 % в 2020 г. до 57,2 % в 2022 г. и по числу случаев с 111,4 до 125,9 на 100 работающих при незначительных изменениях числа дней ВН. В контроле также наблюдался рост ВН: по числу БЛ с 62,2 % в 2020 г. до 69,7 % в 2022 г., случаев с 140,4 до 173,9 и дней – с 1696,0 до 1765,2 соответственно по годам.

Максимальные значения показателей ВН по числу больных лиц отмечены у работников в возрастной категории 1–4 года за 2020 г. и в возрастной категории 5–9 лет за 2021–2022 гг., а по числу случаев в категории 1–4 года. Однако в контрольной группе отмечены более высокие показатели ВН как по числу БЛ, так и по количеству случаев и календарных дней в сравнении с основной группой.

ЗВУТ работников, занятых во вредных и (или) опасных условиях труда литейного производства, формируется преимущественно за счет болезней органов дыхания (48,6 случая и 498,2 дня), болезней костно-мышечной системы (17,1 случая и 166,7 дня), COVID-19 (11,8 случая и 191,2 дня) и травм (8,3 случая и 268,7 дня).

Связь нарушений состояния здоровья с условиями труда по показателям относительного риска и этиологической доли по заболеваниям костно-мышечной системы и травмам соответствует средней и высокой степени нарушения здоровья, что может говорить о возможном развитии производственно обусловленных заболеваний.

Сведения о НИР. НИР «Разработать метод оценки состояния здоровья работающих на основе анализа заболеваемости с временной утратой трудоспособности» подпрограммы «Безопасность среды обитания человека» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», 2021–2025 годы, регистрационный номер 20221274.

Литература

1. Витязь, П. А. Анализ состояния литейных производств Республики Беларусь / П. А. Витязь, А. В. Толстой, М. А. Садоха // Литье и металлургия. – 2019. – № 3. – С. 35–40.

2. Алешина, Ю. А. Профессиональные факторы риска для здоровья работников литейных производств предприятий машиностроения (обзор литературы) / Ю. А. Алешина, Т. А. Новикова // Гигиена и санитария. – 2024. – Т. 103, № 5. – С. 462–467.

3. Углубленный анализ заболеваемости с временной утратой трудоспособности работающих : метод. рекомендации № 112-9911 / М-во здравоохранения Респ. Беларусь. – Минск, 1999. – 40 с.

Klebanov R. D., Madeksha I. V., Nikolaeva E. A., Hutsich K. A.

ANALYSIS OF MORBIDITY WITH TEMPORARY LOSS OF WORKING CAPACITY OF FOUNDRY WORKERS

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

The article presents the results of the analysis of morbidity with temporary loss of working capacity (hereinafter – MTD) of year-round workers employed in harmful and (or) dangerous working conditions of foundry production of machine-building enterprise. The dynamics and structure of MTD are studied, the connection of health disorders with working conditions is determined by the relative risk and etiologic share.

Keywords: working conditions, temporary disability rates, temporary disability morbidity, relative risk, etiologic proportion.

References

1. Vityaz P. A., Tolstoy A. V., Sadokha M. A. Status analysis of the foundries in the republic of belarus. *Foundry Prod Metall.* 2019; 3: 40–35. (in Russian)

2. Aleshina Y. A. Occupational risk factors for the health of workers in foundries of mechanical engineering enterprises (literature review). *Gig i Sanit.* 2024; 103(5): 462–7.

3. In-depth analysis of morbidity with temporary loss of ability to work of workers: method. rec. No. 112-9911. Ministry of Health of the Republic of Belarus. Minsk; 1999. 40 p. (in Russian)

e-mail для переписки: krd1@tut.by

Поступила 08.10.2024

УДК 613.6:616.833-036.838

Ланко И. В.

МЕДИКО-СОЦИАЛЬНАЯ НАПРАВЛЕННОСТЬ РЕАБИЛИТАЦИОННЫХ МЕРОПРИЯТИЙ ПРИ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

*Федеральное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека,
г. Мытищи, Россия*

Аннотация. В современных экономических условиях сохранение здоровья трудоспособного населения становится первоочередной задачей. Одним из направлений медицинской деятельности в области охраны здоровья работников является проведение медицинской и социальной реабилитации пострадавших на производстве.

Ретроспективный анализ амбулаторных и стационарных карт 117 больных профессиональными заболеваниями периферической нервной системы позволил изучить структуру профессиональной заболеваемости, сроки установления диагноза после выявления начальных симптомов заболевания, выявить клинико-функциональные изменения, сохраняющиеся в постконтактном периоде, и определить реабилитационные мероприятия, наиболее перспективные в пролонгации трудоспособности пострадавшего на производстве работника.

Ключевые слова: профессиональные заболевания, сохранение здоровья, трудоспособное население, медико-социальная направленность, реабилитационный прогноз.

Введение. На современном этапе экономических преобразований человеческие ресурсы становятся главной ценностью общества. В связи с этим охрана здоровья работников рассматривается как

одно из приоритетных направлений здравоохранения, а профилактика заболеваний приобретает первоочередное значение в сохранении профессионального долголетия [1].

Наиболее часто профессиональные заболевания периферической нервной системы формируются при длительном воздействии производственных факторов и диагностируются обычно в возрасте 50–60 лет. Как правило, в этом возрасте у рабочих выявляются различные сопутствующие заболевания, такие как ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь, дислипидемия, ожирение, сахарный диабет [2].

Несмотря на различные меры, которые проводятся по здоровьесбережению работников, воздействие вредных условий труда способно вызывать развитие профессиональных болезней, способствующих потере трудоспособности работника. В связи с этим представляет актуальность оценка реабилитационного прогноза пострадавших на производстве для реализации мероприятий, направленных на интеграцию пострадавших в общество [3].

Реабилитационные мероприятия при профессиональных заболеваниях периферической нервной системы характеризуются четкой медико-социальной направленностью и требуют дифференцированного подхода к различным составляющим реабилитационного процесса: предупреждение прогрессирования заболеваний, рациональное трудоустройство и переобучение. Они включают в себя медицинские, психологические, образовательные и социальные меры, направленные на восстановление и сохранение трудоспособности работников, улучшение их качества жизни и обеспечение возможности для продолжения трудовой деятельности [4].

Профессиональная реабилитация пострадавших вследствие профессиональных заболеваний затруднена в связи с рядом причин: отсутствие квотирования рабочих мест, низкий уровень переобучения и обучения пострадавших центрами занятости населения, предложения низкооплачиваемых или противопоказанных вакантных должностей, отказом в трудоустройстве инвалидам, достигшим пенсионного возраста (50 лет и старше).

Цель – изучение медицинской документации пациентов с профессиональными заболеваниями периферической нервной системы для определения перспективных реабилитационных мероприятий медико-социальной направленности.

Материал и методы. Проведен ретроспективный анализ стационарных и амбулаторных карт 117 больных с различными формами профессиональных заболеваний периферической нервной системы, наблюдавшихся в неврологическом отделении ФБУН «ФНЦГ им. Ф. Ф. Эрисмана» в 2014–2024 гг.

Результаты и их обсуждение. Исследование показало, что большинство пациентов с установленными профессиональными заболеваниями – работники горнодобывающей промышленности (85,8 %), остальные – работники машиностроения (11,5 %), а также прочих отраслей экономической деятельности.

Основную массу больных (55,1 %) составляли работники виброопасных профессий с вибрационной болезнью II степени (74,4 %), I–II степени (16,7 %) и I степени (6,4 %). Остаточные явления вибрационной болезни отмечены у 2,5 %.

У 10,3 % больных диагностировались профессиональные дорсопатии: мышечно-тонический синдром шейного и поясничного уровней (у 25 %), хроническая шейная (12,5 %) и хроническая пояснично-крестцовая радикулопатия (62,5 %). В 25,6 % случаев отмечалась полинейропатия конечностей от комплекса факторов, у 6,4 % – двусторонняя нейросенсорная тугоухость, у 1,3 % пациентов – профессиональные интоксикации.

Сочетанные формы профессиональных заболеваний (вибрационная болезнь с нейросенсорной тугоухостью или с профессиональными дорсопатиями) имели место у 20,5 % больных.

Профессиональная этиология заболеваний в большинстве наблюдений устанавливалась при стаже работы во вредных условиях от 15 до 20 лет (69,2 %), реже при стаже более 25 лет (25,6 %), что подтверждало позднюю диагностику профзаболеваний и запоздалое начало реабилитационных мероприятий.

Результат периодических медицинских осмотров (далее – ПМО) показал недостаточное выявление (до 26,9 % всех случаев) профессиональных заболеваний на начальных стадиях, а в большинстве случаев при ПМО вообще не отмечено признаков профессиональных заболеваний. Анализ медицинской документации свидетельствовал, что у работников, контактирующих с вибрацией, уже при стаже до 10 лет выявлялись сенсорные или вегетативные нарушения на конечностях, характерные для полинейропатии, однако эти изменения не рассматривались при ПМО как начальные проявления вибрационной болезни. Кроме того, пациентам не назначалось дообследование с помощью лабораторных и функциональных методов, не проводились курсы профилактического лечения.

Диагноз профессиональной радикулопатии довольно часто (53,8 %) устанавливался больным с длительно наблюдающимся (более 5–10 лет) мышечно-тоническим или болевым корешковым синдромом. При этом в неврологическом статусе пациентов в течение длительного времени выявлялись рефлекторные и сенсорные нарушения, характерные для вертеброгенной радикулопатии. В 25 % случаев радикулопатия установлена пациентам, признанным инвалидами от «общего» заболевания, что сопровождалось впоследствии изменением причины инвалидности на «заболевание профессиональное».

В группе сочетанных форм наиболее часто сначала устанавливалась профессиональная нейро-сенсорная тугоухость I степени, пациенты продолжали работать в прежних условиях труда, а через 1–2 года и более устанавливалась вибрационная болезнь или профессиональная радикулопатия.

Установлены темпы формирования вибрационной болезни у гипертоников: средний срок прогрессирования от начальных проявлений воздействия вибрации до выраженных клинических симптомов для работников карьеров – (8,3 ± 4,1) года, для подземных горнорабочих – (9,8 ± 4,2) года, для работников машиностроения – (10,2 ± 4,6) года. Определена наиболее часто встречающаяся коморбидная патология, сокращающая сроки развития вибрационной болезни: сахарный диабет (на 4,6 года), избыточная масса тела (на 13,4 года), гиперхолестеринемия (на 7,8 года).

Большинство исследуемых при установлении диагноза профессионального заболевания нуждались в рациональном трудоустройстве с исключением всех противопоказанных факторов. Однако довольно часто (23,1 %) при трудоустройстве сохранялись некоторые вредные факторы. Например, заболевшего вибрационной болезнью не всегда отстраняли от воздействия производственного шума, усугубляющего течение вибрационной патологии, или он продолжал трудиться с физическими нагрузками.

Больным с профессиональными заболеваниями чаще устанавливалась степень утраты профессиональной трудоспособности без группы инвалидности (62,8 %) или III группа от профзаболевания (30,8 %).

Трудоустройство больных нередко сопровождалось снижением заработка в новой профессии, что не компенсировалось доплатой по процентам утраты профессиональной трудоспособности. В случаях установления профессионального заболевания после 50–55 лет возникали трудности с переобучением новой профессии.

Динамическое наблюдение за пациентами показало, что через 8–10 лет в 28,2 % случаев регрессировали симптомы вибрационной болезни или рефлекторные синдромы профессиональных дорсопатий. У 11,5 % пациентов вибрационная болезнь имела прогрессирующее течение на фоне сопутствующих сердечно-сосудистых заболеваний или сахарного диабета, изменяя степень утраты трудоспособности.

Заключение. Анализ собственных исследований свидетельствует об общей тенденции к регрессу, а в ряде случаев прогрессированию ряда профессиональных заболеваний, а регистрируемый в настоящее время их уровень во многом является отражением условий труда, существовавших 10–20 лет назад.

Поэтому реабилитация пациентов с профессиональными заболеваниями является важным аспектом в области социальной защиты работающего населения, так как заболевания, связанные с профессиональной деятельностью, могут негативно влиять на здоровье, социальное положение и благосостояние работников, а также на производительность труда.

После установления профессионального диагноза пациентам составляются индивидуальные программы реабилитации и программы реабилитации пострадавшего с рекомендациями по социальной, медицинской и профессиональной реабилитации. Учитывая, что степень выраженности профессиональных заболеваний в постконтактном периоде может изменяться, необходимо осуществлять динамическое наблюдение за профессиональными больными с последующей коррекцией программы профессиональной реабилитации.

Отсутствие ранней диагностики, несвоевременная профилактика заболеваний могут приводить к развитию профессиональной патологии, затруднению медицинской и социально-трудовой реабилитации, что снижает реабилитационный потенциал и ухудшает реабилитационный прогноз, усугубляя социальную недостаточность. Возрастает необходимость оптимизации всех этапов реабилитационной помощи пострадавшим в результате профессиональных заболеваний.

Сведения о НИР. НИР «Разработка современных здоровьесберегающих технологий в рамках концепции увеличения трудового долголетия», регистрационный номер 121090800074-4.

Литература

1. Бухтияров, И. В. Современное состояние и основные направления сохранения и укрепления здоровья работающего населения России / И. В. Бухтияров // Медицина труда и промышленная экология. – 2019. – № 9. – С. 527–532.

2. Бабанов, С. А. Профессиональные поражения сердечно-сосудистой системы / С. А. Бабанов, Р. А. Бараева // Врач. – 2015. – № 3. – С. 7–10.

3. Анализ условий труда и производственных факторов в аспекте влияния на здоровье работающих / И. В. Духанина, А. И. Хан, О. В. Золотарева, И. В. Архипов // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 9, ч. 1. – С. 133–136.

4. Куделина, Л. А. Новые подходы к развитию системы комплексной реабилитации лиц, пострадавших на производстве / Л. А. Куделина, С. А. Ашихина // Вестник государственного социального страхования. – 2016. – № 9. – С. 11–22.

Lapko I. V.

MEDICAL AND SOCIAL ORIENTATION OF REHABILITATION MEASURES IN OCCUPATIONAL DISEASES PERIPHERAL NERVOUS SYSTEM

Federal Budgetary Establishment of Science «Federal Scientific Center of Hygiene named after F. F. Erisman» of the Federal Service for Surveillance on Consumer Protection and Human Wellbeing, Mytishchi, Russia

Preservation of health of able-bodied population becomes a priority task in modern economic conditions. Medical and social rehabilitation of industrial injuries is one of the directions of medical activity in the field of health protection of workers.

Retrospective analysis of outpatient and inpatient records of 117 patients with occupational diseases of the peripheral nervous system made it possible to study the structure of occupational morbidity, the terms of diagnosis after detection of initial symptoms of the disease, to identify clinical and functional changes that persist in the post-exposure period, and to determine the rehabilitation measures that are most promising in prolonging the ability to work of the injured worker.

Keywords: occupational diseases, health preservation, able-bodied population, medical and social orientation, rehabilitation prognosis.

References

1. Bukhtiyarov I. V. The current state and main directions of preserving and strengthening the health of the working population of Russia. *Russ J Occup Health Ind Ecol.* 2019; 9: 527–32. (in Russian)

2. Babanov S. A., Baraeva R. A. Occupational lesions of the cardiovascular system. *Vrach.* 2015; 3: 7–10. (in Russian)

3. Dukhanina I. V., Khan A. I., Zolotareva O. V., Arhipov I. V. Analysis of working conditions and production factors in the aspect of influence on the health of workers. *Fundament Issled.* 2015; 9, Pt. 1: 133–6. (in Russian)

4. Kudelina L. A., Ashikhina S. A. New approaches to the development of a system of comprehensive rehabilitation of persons injured at work. *Vestn Gos Soc Strahovaniya.* 2016; 9: 11–22. (in Russian)

e-mail для переписки: innakryl78@rambler.ru

Поступила 07.10.2024

УДК 613.6:614.894:614.25

Мадекша И. В., Николаева Е. А., Итнаева-Людчик С. Л., Зеленко А. В.

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К АНАЛИЗУ РИСКОВ ЗДОРОВЬЮ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ СРЕДСТВ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Разработан метод анализа рисков здоровью медицинских работников при использовании средств индивидуальной защиты органов дыхания (далее – СИЗОД), включающий комплексные подходы к расчету уровня риска, учитывающего категорию работ медицинских работников в зависимости от уровней энерготрат, субъективную оценку самочувствия медицинских работников при использовании СИЗОД, режимов и условий их эксплуатации, к количественной гигиенической оценке

риска, а также к управлению этими рисками путем воздействия на режимы и условия эксплуатации масок медицинских, организации санитарно-противоэпидемических мероприятий.

Ключевые слова: медицинские работники, средства индивидуальной защиты органов дыхания, маска медицинская, анализ риска здоровью.

Введение. Медицинские работники представляют собой особую профессиональную группу, нуждающуюся в постоянном внимании, так как состояние здоровья и качество их трудовой деятельности напрямую зависит от условий труда. Известно, что вредные условия труда, отсутствие разработанных профилактических мероприятий, направленных на снижение рисков здоровью медицинских работников, оказывают неблагоприятное влияние на состояние их здоровья, а также способствуют росту производственно-обусловленных и профессиональных заболеваний [1].

Статистические данные свидетельствуют о том, что среди профессиональных заболеваний медицинских работников наиболее часто регистрируются туберкулез, вирусные гепатиты В и С. Так, в период с 2010 по 2018 год в Республике Беларусь было выявлено 77 профессиональных заболеваний медицинских работников организаций здравоохранения, наиболее распространенное из них – туберкулез органов дыхания (73 случая, 94,8 %). В 2020 году зарегистрировано 98 случаев профессиональной заболеваемости работников здравоохранения, связанных с пандемическим распространением вируса SARS-CoV-2 [2]. В период с 2021 по 2023 год с учетом улучшения эпидемиологической обстановки по заболеваемости COVID-19 выявлено 8 случаев профессиональных заболеваний медицинских работников организаций здравоохранения.

В процессе трудовой деятельности медицинские работники в зависимости от характера производственных операций подвергаются воздействию различных вредных производственных факторов, при этом биологический фактор вносит основной вклад в формирование уровней профессиональных рисков здоровью работников организаций здравоохранения. В настоящее время, наряду с известными биологическими агентами, появляются и новые биологические угрозы, определяющие дополнительные риски здоровью медицинских работников. Ежедневно медицинский персонал поликлиник и больниц контактирует с большим количеством пациентов – потенциальными носителями инфекционных заболеваний. Дополнительную нагрузку создают сезонные вспышки вирусных и бактериальных инфекций. В такой период для большинства медицинских работников отмечается повышенное содержание в воздухе рабочей зоны аэрозоля, содержащего жизнеспособные патогенные микроорганизмы [3].

В связи с тем что в большинстве случаев биологический фактор является определяющим вредным фактором условий труда медицинских работников, а также с повсеместным распространением «биологических агентов» в учреждениях здравоохранения для снижения уровней профессионального риска здоровью и профессиональных заболеваний требуется организация профилактических мероприятий на рабочих местах медицинских работников. Однако ввиду особенностей распространения биологического фактора существуют объективные ограничения в использовании технологических, архитектурно-планировочных и иных групп мероприятий в системе организации профилактических мероприятий на рабочих местах в организациях здравоохранения. В этой связи особую роль в управлении профессиональными рисками играет использование средств индивидуальной защиты органов дыхания.

К наиболее распространенным и чаще используемым СИЗОД в практике медицинских работников относятся маски медицинские, являющиеся медицинским изделием, закрывающим нос и рот и обеспечивающим барьер для минимизации прямой передачи инфекционных агентов между персоналом и пациентом [4]. Так как медицинская маска является основным средством защиты органов дыхания от инфекций, передающихся воздушно-капельным путем, ее применение входит в состав комплекса мер для профилактики инфекций и инфекционного контроля и может способствовать ограничению распространения ряда вирусных инфекций. Ношение маски имеет свои преимущества и обеспечивает неоспоримую защиту от инфекций. Однако могут существовать потенциальные риски и побочные эффекты при использовании медицинской маски. Во время длительного ношения медицинской маски медицинские работники стали чаще чувствовать усталость, головную боль, зрительный дискомфорт, снижение работоспособности, о чем свидетельствуют результаты проведенного анкетного опроса 95 респондентов [5]. Вышеизложенное определяет необходимость разработки метода анализа рисков здоровью медицинских работников при использовании СИЗОД, направленного на медицинскую профилактику нарушений здоровья медицинских работников, обусловленных их применением.

Цель работы – разработка методических подходов гигиенической оценки уровня риска здоровью медицинских работников при использовании масок медицинских.

Материалы и методы. Для обоснования и разработки метода анализа рисков здоровью медицинских работников при использовании СИЗОД проведено исследование, включающее следующие этапы: проведение комплексной гигиенической оценки условий труда медицинских работников амбулаторно-поликлинического звена и стационаров организаций здравоохранения в соответствии с Санитарными нормами и правилами «Гигиеническая классификация условий труда», утвержденными постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 28.12.2012 № 211; формирование профессиональных когорт медицинских работников по уровням энерготрат в соответствии с категориями работ (характер выполняемых работ, должностные обязанности и т. д.); субъективная оценка медицинскими работниками условий эксплуатации СИЗОД в благоприятный и неблагоприятный эпидемиологический периоды работы, а также субъективная оценка волонтерами условий эксплуатации медицинских масок в условиях эксперимента; оценка психофизиологического и функционального состояния здоровья волонтеров в процессе экспериментальной эксплуатации медицинских масок.

С целью субъективной оценки условий эксплуатации изделий медицинского назначения для защиты органов дыхания проведен анкетный опрос медицинских работников амбулаторно-поликлинических организаций здравоохранения и организаций здравоохранения стационарного профиля. В основную часть анкеты вошли вопросы, касающиеся наличия и выраженности симптомов, свидетельствующих о нарушении функционального состояния медицинского работника в процессе ношения маски, оценки влияния ношения маски на физическое и психоэмоциональное состояние.

Экспериментальные исследования состояния здоровья проводили с участием волонтеров (48 человек средним возрастом 30,5 года (21,0–47,5), в том числе 19 мужчин и 29 женщин), которые носили маски медицинские с учетом протоколов исследований. В процессе исследования были смоделированы условия труда медицинских работников с различными уровнями энерготрат, в зависимости от характера выполняемых работ, должностных обязанностей и т. д.

С целью изучения функционального состояния организма волонтеров в процессе эксплуатации изделий медицинского назначения для защиты органов дыхания в динамике проведено обследование 34 волонтеров с применением программно-аппаратного комплекса «Омега-М» в начале и конце каждого дня испытаний для каждого типа маски. Всего проведено 480 измерений. В процессе обследования фиксировались показатели функционального состояния организма и сердечной деятельности, отражающие особенности вегетативной регуляции: уровень адаптации организма А; показатель вегетативной регуляции В; показатель центральной регуляции С; показатель психоэмоционального состояния D; интегральный показатель состояния организма Н; индекс вегетативного равновесия IVR; вегетативный показатель ритма VPR; показатель адекватности процессов регуляции PAPR; индекс напряженности IN; фрактальный показатель биоритмов F.

Оценка состояния организма проводилась комплексно и оценивалась как:

«физиологическая норма» – высокий уровень физической и психоэмоциональной активности, оптимальная адаптация;

«отклонение от нормы» (донозологическое состояние) – имеются незначительные отклонения функциональных показателей от нормы, свидетельствующие о напряжении регуляторных систем;

«патологические изменения» (срыв адаптации) – перенапряжение вегетативной нервной системы, резкое снижение энергетических ресурсов организма, признаки нервного перенапряжения и депрессивного состояния.

Исследование психофизиологических показателей состояния организма волонтеров в зависимости от режимов и условий эксплуатации изделий медицинского назначения для защиты органов дыхания проводилось с применением психодиагностической системы «Эгоскоп».

Психодиагностические методики были сгруппированы по тематическим направлениям:

1. Психологические тесты-опросники, предназначенные для выявления индивидуальных особенностей личности, характера, темперамента, психических свойств и состояний, таких как тревожность, депрессия, склонность к девиантному поведению, нервно-психическое напряжение, агрессия, акцентуации характера, темперамент, стрессоустойчивость, особенности межличностных отношений, мотивации к достижению успеха и избеганию неудач и пр.

2. Проективные тесты, позволяющие выявить эмоциональные стереотипы реагирования в стрессовых ситуациях, прогноз поведения в межличностном взаимодействии, мотивы поведения,

фрустрационные реакции в условиях трудовой деятельности, особенности системы отношений обслеуемого по различным тестируемым темам, оценить склонность к агрессивному поведению и пр.

3. Когнитивные тесты, которые оценивают уровень общих умственных способностей, структуру интеллекта, логичность мышления (установление закономерностей), способность к обобщению и анализу информации, пространственному мышлению, гибкости мыслительных процессов, внимания, коэффициент интеллекта IQ и пр.

4. Психофизиологические тесты, оценивающие такие параметры, как внимание, функциональное состояние и степень активации ЦНС, работоспособность, скорость и безошибочность принятия решений, утомляемость, помехоустойчивость в условиях моделируемых зрительных помех, уравновешенность процессов возбуждения и торможения, качество психомоторной деятельности и зрительно-моторной координации и пр.

Полученные результаты комплексного исследования легли в основу обоснования и разработки метода анализа рисков здоровью медицинских работников при использовании масок медицинских, включающего оценку результатов анкетирования медицинских работников по вопросам изменения состояния здоровья при использовании масок медицинских, режимов и условий их эксплуатации с учетом категории работ медицинских работников в зависимости от уровней энергозатрат, а также соблюдения условий надевания/снятия маски медицинской.

Результаты и их обсуждение. С целью управления профессиональными рисками здоровью медицинских работников при использовании медицинских масок предложен комплекс мер по выявлению, оценке и анализу профессиональных рисков, что в дальнейшем может привести к возможному снижению уровней профессиональных рисков. Данный комплекс формализован в инструкции по применению № 002-0523 «Метод анализа рисков здоровью медицинских работников при использовании средств индивидуальной защиты органов дыхания», утвержденной заместителем министра – Главным государственным санитарным врачом Республики Беларусь 12.06.2023.

Метод анализа рисков здоровью медицинских работников при использовании СИЗОД включает: оценку риска – процесс установления риска развития и степени выраженности неблагоприятных последствий для здоровья человека, обусловленных применением масок медицинских;

управление риском – процесс принятия и выполнения управленческих решений, направленных на снижение риска возникновения неблагоприятных последствий для здоровья, связанных с использованием масок медицинских, и минимизацию возможных потерь, вызванных его реализацией;

информирование о риске – процесс обмена информацией по рискам и управлением рисками между лицами, принимающими решение, и работниками организаций здравоохранения, использующими в процессе трудовой деятельности маски медицинские.

Оценка рисков здоровью медицинских работников при использовании масок медицинских включает два основных этапа: расчет уровня риска и гигиеническую оценку уровня риска.

Для расчета уровня риска здоровью медицинских работников при использовании масок медицинских учитываются:

1) Категория работ медицинских работников в зависимости от уровней энергозатрат (категория работ медицинских работников устанавливается в зависимости от характера выполняемых работ, должностных обязанностей и т. д.). Дифференцированная количественная оценка уровня риска (в баллах) в зависимости от категории работ медицинских работников представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Категории работ медицинских работников в зависимости от уровней энергозатрат

Категории работ в зависимости от уровней энергозатрат	Оценка уровня риска, баллы
Ia, Ib (до 150 ккал/ч)	1
Ia (151–200 ккал/ч)	2
Ib (201–250 ккал/ч)	3

2) Субъективная оценка медицинскими работниками самочувствия при эксплуатации масок медицинских, режимов и условий их эксплуатации, проводится с использованием специально разработанной анкеты (таблица 2).

Таблица 2 – Анкета оценки медицинскими работниками состояния здоровья при использовании медицинских масок, режимов и условий их эксплуатации

№	Вопрос	Варианты ответов / оценка уровня риска, баллы
Оцените Ваше состояние во время ношения медицинской маски в течение одной рабочей смены:		
1	наличие дискомфорта в области лица, заушной области	а) полное отсутствие дискомфорта – 1 балл; б) наличие незначительного дискомфорта, не мешающего работе, – 2 балла; в) наличие выраженного дискомфорта, в том числе сопровождающегося кожными проявлениями (появление зуда, раздражений, высыпаний и др., обострение дерматологических заболеваний), существенно мешающего работе, – 3 балла.
2	наличие жалоб со стороны органов дыхания (ощущение зуда в носоглоточной области, затрудненное дыхание, заложенность носа, насморк, першение/комок в горле, кашель)	а) отсутствие каких-либо жалоб – 1 балл; б) есть жалобы, но состояние позволяет продолжить работу – 2 балла; в) есть жалобы и состояние существенно мешает работе – 3 балла.
Оцените Ваше психоэмоциональное состояние во время ношения медицинской маски в течение одной рабочей смены:		
1	восприимчивость, чувствительность к внешним раздражителям (степень ответной реакции на шум, свет, слова, эмоции и действия окружающих и т. д.)	а) отсутствие каких-либо изменений, обычная восприимчивость и чувствительность – 1 балл; б) умеренно повышенная восприимчивость и чувствительность к внешним раздражителям, не мешающие работе, – 2 балла; в) обостренная восприимчивость и чувствительность, отвлекаемость, фиксация на посторонних раздражителях, существенно мешающие работе, – 3 балла.
Оцените длительность непрерывного ношения одной маски медицинской в течение рабочей смены:		
1	до 2 часов 2–3 часа более 3 часов	1 балл 2 балла 3 балла
Оцените время замены маски медицинской в случаях загрязнения, увлажнения либо повреждения:		
1	незамедлительно отсрочено во времени (более 5 минут)	1 балл 3 балла
Оцените соблюдение условий надевания/снятия маски медицинской:		
1	мытьё рук и/или обработка их антисептиком перед и после применения маски медицинской; фиксация маски в положении, когда полностью ею прикрыта нижняя часть лица (нос, рот, подбородок); плотное прилегание маски за счет фиксации носового зажима	да – 1 балл нет – 3 балла

Расчет уровня риска проводится отдельно по каждому из показателей и основывается на количественной оценке в баллах (от 1 до 3), с последующим суммированием общего количества баллов.

Гигиеническая оценка уровня риска здоровью медицинских работников при использовании масок медицинских проводится следующим образом:

7 баллов (приемлемый риск): практически отсутствуют функциональные и психоэмоциональные изменения состояния организма медицинского работника, связанные с использованием масок медицинских;

8–10 баллов (умеренный риск): возможно проявление изменений показателей функционального и психоэмоционального состояния организма медицинского работника при использовании масок медицинских, не мешающих выполнению должностных обязанностей;

более 11 баллов (высокий риск): наличие изменений функционального и психоэмоционального состояния организма медицинского работника при использовании масок медицинских, существенно мешающих выполнению должностных обязанностей.

По результатам проведения гигиенической оценки уровня риска здоровью медицинских работников при использовании масок медицинских определяется необходимый комплекс мер по управлению риском здоровью. Управление риском здоровью медицинских работников при использовании масок медицинских осуществляется администрацией учреждения здравоохранения путем воздействия на режимы и условия их эксплуатации.

Управление риском здоровью через воздействие на режимы эксплуатации медицинских масок реализуется:

- контролем длительности ношения маски медицинской – длительность непрерывного ношения маски медицинской без ее замены должна составлять не более 2 часов, если иное не предусмотрено законодательством;

- организацией перерывов в использовании масок медицинских.

Управление риском здоровью через условия эксплуатации масок медицинских реализуется:

- подбором маски в соответствии с характером работ медицинского персонала и индивидуальными особенностями медицинских работников (размер, альтернативные варианты креплений и материалов изготовления носового фиксатора и другое);

- соблюдением алгоритма использования маски медицинской;

- обеспечением функционирующей приточно-вытяжной и (или) естественной вентиляцией воздуха в помещениях;

- соблюдением санитарно-эпидемиологических требований в части дезинфекционной обработки помещений, графиков проветривания и очистки воздуха помещений от микроорганизмов.

Информирование медицинского работника и администрации учреждения здравоохранения об уровне риска здоровью осуществляется лицом, проводившим оценку риска.

Пример выполнения анализа рисков здоровью медицинских работников при использовании средств индивидуальной защиты органов дыхания представлен в таблице 3.

Таблица 3 – Анализ рисков здоровью медицинской сестры хирургического кабинета амбулаторно-поликлинического звена при использовании маски медицинской

№	Вопрос	Варианты ответов / оценка уровня риска, баллы
Категории работ медицинских работников в зависимости от уровней энергозатрат		
1	категория работ: Ia	1 балл
Оцените Ваше состояние во время ношения медицинской маски в течение одной рабочей смены:		
1	наличие дискомфорта в области лица, заушной области: полное отсутствие дискомфорта	1 балл
2	наличие жалоб со стороны органов дыхания (ощущение зуда в носоглоточной области, затрудненное дыхание, заложенность носа, насморк, першение/комок в горле, кашель): есть жалобы, но состояние позволяет продолжить работу	2 балла
Оцените Ваше психоэмоциональное состояние во время ношения медицинской маски в течение одной рабочей смены:		
1	восприимчивость, чувствительность к внешним раздражителям (степень ответной реакции на шум, свет, слова, эмоции и действия окружающих и т. д.): отсутствие каких-либо изменений, обычная восприимчивость и чувствительность	1 балл
Оцените длительность непрерывного ношения одной маски медицинской в течение рабочей смены:		
1	до 2 часов	1 балл
Оцените время замены маски медицинской в случаях загрязнения, увлажнения либо повреждения:		
1	отсрочено во времени (более 5 минут)	3 балла
Оцените соблюдение условий надевания/снятия маски медицинской:		
1	мытьё рук и/или обработка их антисептиком перед и после применения маски медицинской; фиксация маски в положении, когда полностью ею прикрыта нижняя часть лица (нос, рот, подбородок); плотное прилегание маски за счет фиксации носового зажима: соблюдение условий	1 балл
Итоговая оценка – 10 баллов		<i>умеренный риск – возможно проявление изменений показателей функционального и психоэмоционального состояния организма медицинского работника при использовании масок медицинских, не мешающих выполнению должностных обязанностей</i>

Заключение. Разработан метод анализа рисков здоровью медицинских работников при использовании масок медицинских, включающий единые подходы к расчету уровня риска (в баллах), учитывающего категорию работ медицинских работников в зависимости от уровней энергозатрат и субъективную оценку самочувствия медицинских работников при использовании масок медицинских, режимов и условий их эксплуатации, к количественной гигиенической оценке риска (в баллах), а также к управлению этими рисками путем воздействия на режимы и условия эксплуатации масок медицинских, организации санитарно-эпидемиологических мероприятий.

Метод может применяться для проведения оценки уровней риска воздействия на здоровье медицинских работников при использовании масок медицинских, информирования о степени риска их использования лиц, принимающих управленческие решения, обоснования санитарно-эпидемиологических мероприятий, направленных на снижение риска нарушений здоровья медицинских работников, обусловленного использованием масок медицинских.

Сведения о НИР. НИР «Разработать и внедрить научно обоснованные гигиенические требования к изделиям медицинского назначения для защиты органов дыхания, используемым в организациях здравоохранения» подпрограммы «Безопасность среды обитания человека» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», 2021–2025 годы, регистрационный номер 20201674.

Литература

1. Гасилина, Т. Ю. Оценка состояния здоровья медицинских работников клинично-лабораторной службы лечебных учреждений в зависимости от условий труда / Т. Ю. Гасилина, М. В. Аленицкая // Наука и мир. – 2024. – № 1. – С. 63–65.

2. Николаева, Е. А. Условия труда медицинских работников организаций здравоохранения, перепрофилированных в инфекционные организации в период эпидемического подъема заболеваемости респираторными инфекциями / Е. А. Николаева, Г. Е. Косяченко, И. В. Мадекша // Актуальные вопросы гигиены : сб. науч. тр. VIII Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, г. Санкт-Петербург, 25 февр. 2023 г. / М-ва здравоохранения Рос. Федерации, Северо-Западный гос. мед. ун-т им. И. И. Мечникова ; под ред. Л. А. Аликбаевой. – СПб., 2023. – С. 225–232.

3. Захарова, А. И. СИЗОД медицинских работников. Рациональное использование средств индивидуальной защиты в медицинских организациях / А. И. Захарова, В. И. Кругликов // Умные СИЗОД 2023 : сб. работ Конкурса науч. работ студентов, аспирантов, молодых ученых и специалистов в области средств индивидуальной защиты органов дыхания : материалы Молодеж. программы 27-й междунар. специализир. выставки и форума «Безопасность и охрана труда» БИОТ-2023, Санкт-Петербург, 06–07 февр. 2024 года. – М., 2024. – С. 56–59.

4. ГОСТ Р 58396-2019. Маски медицинские. Требования и методы испытаний. – Введ. РБ 13.04.20. – Минск : Госстандарт, 2020. – 19 с.

5. Субъективная оценка факторов профессионального риска для здоровья и психоэмоционального состояния медицинских работников в изменившихся условиях труда в период пандемии COVID-19 / Е. А. Гутич, Г. Е. Косяченко, С. И. Сычик [и др.] // Анализ риска здоровью. – 2023. – № 3. – С. 112–122.

Madeksha I. V., Nikolaeva E. A., Itpaeva-Ljudchik S. L., Zelenko A. V.

METHODOLOGICAL APPROACHES TO HEALTH RISK ANALYSIS HEALTHCARE PROFESSIONALS IF USED RESPIRATORY PROTECTION

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

The method of analyzing health risks to medical workers when using personal respiratory protection equipment (hereinafter – PRE) has been developed. This method includes complex approaches to the calculation of the risk level and management of these risks by influencing the modes and conditions of operation of medical masks, organization of sanitary and anti-epidemic measures. These approaches to calculating the level of risk take into account the category of work of medical workers depending on the levels of energy expenditure, subjective assessment of the well-being of medical workers when using PRE, modes and conditions of their operation.

Keywords: medical workers, personal respiratory protection equipment, medical mask, health risk analysis.

References

1. Gasilina T. Yu., Alenitskaya M. V. Health professional assessment of clinical and laboratory service of medical institutions depending on working conditions. *Sci World*. 2024; 1: 63–5. (in Russian)
2. Nikolaeva E. A., Kosjachenko G. E., Madeksha I. V. Working conditions of medical workers of healthcare organizations repurposed as infectious diseases organizations during the period of epidemic rise in the incidence of respiratory infections. In: Alikbaeva L.A., ed. *Aktual'nye voprosy gigeny*: Sb. nauch. tr. VIII Vseros. nauch.-prakt. konf. s mezhdunar. uchastiem, g. Sankt-Peterburg, 25 fevr. 2023 g. SPb.; 2023: 225–32. (in Russian)
3. Zaharova A. I., Kruglikov V. I. RPE for medical workers. Rational use of personal protective equipment in medical organizations. In: *Occupational Safety and Health BIOT-2023: Materials of the Youth Program of the 27th International Specialized Exhibition and Forum*. Moscow; 2024: 56–9. (in Russian)
4. State Standard R 58396-2019. Medical masks. Requirements and test methods. Minsk: Gosstandart; 2020. (in Russian)
5. Gutich E. A., Kosjachenko G. E., Sychik S. I. et al. Subjective assessment of occupational risk factors for health and psychoemotional state of health care workers under changed working conditions during the COVID-19 pandemic. *Health Risk Anal*. 2023; 3: 112–22. (in Russian)

e-mail для переписки: madeksairina@gmail.com

Поступила 07.10.2024

УДК 613.644:616.12-008.331.1

Преображенская Е. А., Сухова А. В.

ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ШУМ И ВИБРАЦИЯ КАК ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ РИСКА АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

*Федеральное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека,
г. Мытищи, Россия*

Аннотация. Актуальность исследования обусловлена медико-социальной значимостью проблемы профилактики сердечно-сосудистых заболеваний у работающих во вредных и (или) опасных условиях труда. Проведена оценка риска формирования артериальной гипертензии (далее – АГ) и показателей суточного мониторирования артериального давления (далее – СМАД) у работающих мужчин в условиях воздействия шума и вибрации. Обследовано 420 работников обогатительных фабрик АО «Стойленский ГОК», «Михайловский ГОК», подвергающихся воздействию шума (1 группа), и 355 подземных горнорабочих АО «Комбинат КМАруда», подвергающихся сочетанному воздействию шума и вибрации (2 группа). Установлена средняя степень производственной обусловленности АГ у обследованных работников (RR 1,5–1,57, EF 33,0–34,0 %), следовательно, шум и вибрация могут рассматриваться в качестве производственных факторов риска АГ. По данным СМАД выявлены изменения суточного профиля артериального давления (далее – АД), характеризующиеся увеличением периодов дневной и ночной гипертензии с увеличением стажа работы, на что указывают показатели гипертонического индекса времени (далее – ИВ), суточного индекса АД. Полученные данные могут быть использованы для оптимизации алгоритма формирования групп риска развития сердечно-сосудистых осложнений и необходимости своевременного проведения лечебно-профилактических мероприятий.

Ключевые слова: шум, вибрация, рабочие-мужчины, подземные горнорабочие, рабочие обогатительных фабрик, сердечно-сосудистая система, риск артериальной гипертензии, суточное мониторирование артериального давления.

Введение. Актуальность настоящего исследования обусловлена значительным контингентом работающих во вредных и (или) опасных условиях труда, возрастанием доли хронических неинфекционных заболеваний, в том числе болезней системы кровообращения, среди трудоспособного населения, высокой медико-социальной значимостью проблемы [1–3].

По данным общероссийского мониторинга охраны и условий труда удельный вес работников, занятых на работах с вредными и (или) опасными условиями труда, достигает 38,5–39,7 %¹. Доля рабочих мест на промышленных предприятиях, не соответствующих гигиеническим нормативам по шуму, составляет 16,22 %, по вибрации – 6,75 %².

Длительное воздействие производственного шума и вибрации на организм работающих сопровождается неспецифическими изменениями со стороны сердечно-сосудистой системы, повышенным риском развития производственно обусловленной сердечно-сосудистой патологии [4–6].

В связи с чем для повышения эффективности профилактики у работников шумовиброопасных производств необходимо дальнейшее изучение функционального состояния сердечно-сосудистой системы как одного из важных индикаторов состояния здоровья.

Цель исследования – оценка риска формирования артериальной гипертензии, показателей суточного мониторирования артериального давления у работающих в условиях воздействия шума и вибрации.

Материалы и методы. Обследовано 775 рабочих, которые были разделены на две группы в зависимости от характера производственных факторов. 1 группу (420 чел.) составили рабочие обогатительных фабрик АО «Стойленский ГОК», «Михайловский ГОК» (дробильщики, машинисты мельниц, слесари-ремонтники), приоритетным неблагоприятным фактором производственной среды у которых был шум интенсивностью 88–90 дБА (класс 3.2). 2 группа (355 чел.) состояла из подземных горнорабочих АО «Комбинат КМАруда» (проходчики, машинисты вибро-погрузочной машины, бурильщики), подвергающихся сочетанному воздействию шума с эквивалентным уровнем 92–95 дБА (класс 3.2) и общей или локальной вибрации, превышающей ПДУ (класс 3.1.-3.2).

Сравниваемые группы были сопоставимы по возрасту и стажу. Все обследованные – мужчины в возрасте от 30 до 60 лет (средний возраст в 1 группе 45,7 года, в 2 группе – 46,8 года), стаж работы во вредных условиях труда от 10 до 30 лет (средний стаж в 1 группе 20,6 года, в 2 группе – 21,2 года). Группы обследованных рабочих были разделены на подгруппы в зависимости от стажа работы: стажевая подгруппа со стажем работы менее 15 лет и стажевая подгруппа со стажем работы более 15 лет.

Контрольную группу составили 100 человек в возрасте 30–59 лет, не контактирующие в процессе трудовой деятельности с шумом и вибрацией.

Состояние здоровья оценивалось по результатам углубленного медицинского осмотра. Всем обследованным проводилось клинично-функциональное и лабораторное обследование, включающее осмотр специалистов (терапевт, невролог, окулист), сбор жалоб, анамнеза, измерение АД, электрокардиограммы (далее – ЭКГ), определение индекса массы тела (далее – ИМТ), окружности талии (далее – ОТ), при сборе анамнеза уточняли факт курения и уровень физической активности.

С целью углубленного изучения функционального состояния сердечно-сосудистой системы в условиях стационара проведено суточное мониторирование АД у 350 работников на аппарате МДП-НС-02с «ДМС Передовые Технологии» (Россия). Определяли следующие показатели: среднесуточное систолическое (далее – САД) и диастолическое (далее – ДАД) артериальное давление, средняя частота сердечных сокращений (далее – ЧСС), гипертонический индекс времени; степень ночного снижения (далее – СНС) АД (суточный индекс).

Оценка профессионального риска проводилась по показателям относительного риска (1) и этиологической доли (2) в соответствии с Руководством «Профессиональный риск для здоровья работников» под ред. Н. Ф. Измерова и Э. И. Денисова (2003) [7]:

$$RR = AR_E / AR_0 \quad (1)$$

где RR – относительный риск;

AR_E – доля лиц, имеющих определенное заболевание в группе, подверженной влиянию фактора риска;

AR_0 – доля лиц, имеющих определенное заболевание в группе, не подверженной влиянию фактора риска.

¹ Результаты мониторинга условий и охраны труда в Российской Федерации в 2022 году. Министерство труда и социальной защиты Российской Федерации, ФГБУ «ВНИИ труда» Минтруда России. – Москва, 2023. – 108 с. Mode of access: https://eisot.rosmintrud.ru/attachment/result_22. – Date of access: 06.09.2024.

² О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2023 году: Государственный доклад. – Москва: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2024. – 364 с.

$$EF = (RR - 1) / RR, \quad (2)$$

где EF – этиологическая доля;
RR – относительный риск.

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью Microsoft Excel, IBM SPSS Statistica v. 19.0. Для оценки достоверности различий количественных показателей использовали t-критерий Стьюдента. Для оценки достоверности различий качественных признаков рассчитывали χ^2 .

Результаты и их обсуждение. По данным медицинского обследования установлено, что в структуре выявленной патологии у обследованных работников преобладают болезни органов кровообращения (код по МКБ-10 I.11, I.25). Артериальная гипертензия выявлена у 43 % работников 1 группы, 45 % работников 2 группы и у 28 % работников контрольной группы (таблица 1).

Таблица 1 – Распространенность болезней системы кровообращения у обследованных работников, %

Нозологическая форма		1 группа n = 420	2 группа n = 355	Контроль n = 100
Артериальная гипертензия (АГ)	АГ 1 стадии	25,9	23,1	20,0
	АГ 2 стадии	15,9	21,9*	8,0
	АГ 3 стадии	1,2	–	–
	всего	43,0**	45,0**	28,0
ИБС (стенокардия напряжения ФК 1-2)		8,0	6,8	4,0
* достоверные различия с показателями 1 группы, $p < 0,05$; ** достоверные различия с показателями группы контроля, $p < 0,05$. Примечания: 1) ИБС – ишемическая болезнь сердца; 2) ФК – функциональный класс.				

Повышение АД, соответствующее АГ 1 стадии, регистрировалось одинаково часто в обеих сравниваемых группах (25,9 % в 1 группе и 23,1 % в 2 группе, 20,0 % в группе контроля). Артериальная гипертензия 2 стадии достоверно чаще диагностировалась у работников 2 группы, подвергающихся сочетанному воздействию шума и вибрации (21,9 % против 15,9 % у работников 1 группы, $p < 0,05$). В единичных случаях у работников 1 группы выявлялась АГ 3 стадии. Наличие ИБС диагностировано у 8 и 6,8 % работников 1 и 2 группы соответственно.

Частота артериальной гипертензии у работников сравниваемых групп достоверно превышала показатели контрольной группы (28 %, $p < 0,05$) и имела четкую тенденцию к росту с увеличением стажа и возраста работников. При стаже работы 10–15 лет частота выявления АГ составляла 6,8–8,4 %, в стажевой группе 16–20 лет этот показатель возрастал в 2,5 раза, составляя 18,8–20,2 %, достигая максимальных значений при стаже работы более 25 лет (57,3–60,7 %).

Установлена средняя степень производственной обусловленности артериальной гипертензии у обследованных работников обеих сравниваемых групп (RR 1,5–1,57, EF 33,0–34,0 %) (таблица 2).

Таблица 2 – Степень производственной обусловленности АГ в зависимости от стажа работы

Стаж работы	1 группа (шум)			2 группа (шум + вибрация)		
	RR	EF	p	RR	EF	p
10–15 лет	1,05	5,0	0,7	1,15	16,7	0,9
16–20 лет	1,43	30,0	0,6	1,4	28,6	0,7
21–25 лет	2,16*	53,6	0,03*	2,03	50,6	0,05
> 25 лет	1,89*	47,0	0,01 *	1,98 *	49,8	0,01*
Всего	1,50*	33,0	0,05*	1,57*	34,0	0,05*
* достоверные различия с показателями группы контроля, $p < 0,05$.						

Выявлена «стажевая» зона риска формирования АГ: достоверные различия с группой контроля по частоте выявления АГ получены при стаже работы в условиях воздействия шума и вибрации 21 год и более.

По результатам осмотра и сбора анамнеза выявлена высокая распространенность непрофессиональных факторов риска развития АГ: избыточная масса тела, дислипидемия, курение, низкая физическая активность (таблица 3).

Таблица 3 – Распространенность непрофессиональных факторов риска АГ у обследованных работников, %

Непрофессиональные факторы риска АГ	1 группа (шум) 420 чел.	2 группа (шум + вибрация) 355 чел.	Контроль 100 чел.
Курение	52,5	56,1	46,0
ИМТ > 25	67,8	72,3	60,0
ОТ > 94 см	52,4	58,2	46,0
НФА	35,3	29,5	38,0
Гиперхолестеринемия	67,5	71,5	61,0
Гипергликемия	10,8	13,9	8,0

Примечание – НФА – низкая физическая активность.

Более половины опрошенных (52,5 % – в 1 группе и 56,1 % – в 2 группе) являлись курильщиками. Избыточная масса тела (индекс ИМТ > 25) выявлялась одинаково часто как у работников первой (67,8 %), так и второй группы (72,3 %). Абдоминальное ожирение (объем талии свыше 94 см у мужчин), являющееся индикатором метаболических нарушений и одним из факторов риска АГ, диагностировано у каждого второго работника (52,4 % в 1 группе и 58,2 % в 2 группе). Гиперхолестеринемия выявлена у 67,5 % работников 1 группы и 71,5 % работников 2 группы. Нарушение углеводного обмена (гипергликемия натощак) зарегистрировано у 10,8 и 13,9 % обследованных 1 и 2 группы соответственно.

Достоверных различий по показателям распространенности непрофессиональных факторов риска АГ между сравниваемыми группами не установлено.

Показатели суточного мониторирования артериального давления у обследованных работников представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Показатели суточного мониторирования артериального давления в зависимости от стажа работы

Показатели суточного мониторирования артериального давления	1 группа		2 группа	
	< 15 лет n = 85	> 15 лет n = 95	< 15 лет n = 80	> 15 лет n = 90
Среднесуточное САД, мм рт. ст.	129,7 ± 17,3	140,7 ± 10,6 [#]	130,2 ± 15,7	146,7 ± 7,49 [#]
Среднесуточное ДАД, мм рт. ст.	83,8 ± 8,87	87,1 ± 6,51 [#]	84,5 ± 7,8	91,2 ± 6,7* [#]
Гипертонический ИВ САД, %	28,6 ± 3,7	54,8 ± 2,2 [#]	30,8 ± 2,7	61,5 ± 3,3* [#]
Гипертонический ИВ ДАД, %	15,6 ± 2,3	35,0 ± 2,3 [#]	17,7 ± 2,3	40,8 ± 2,5* [#]
СНС САД, % (суточный индекс)	18,4 ± 1,4	5,3 ± 1,2 [#]	14,7 ± 1,7	5,1 ± 1,2 [#]
СНС ДАД, % (суточный индекс)	16,3 ± 1,5	6,8 ± 1,5 [#]	17,2 ± 1,2	6,0 ± 1,5 [#]
ЧСС, уд/мин	72,8 ± 2,3	74,0 ± 1,2	71,6 ± 1,9	81,5 ± 1,0*

* достоверные различия с показателями 1 группы (стажевой подгруппой « > 15 лет»), p < 0,05;
достоверные различия между стажевыми подгруппами « < 15 лет» и « > 15 лет», p < 0,05.

Анализ данных, представленных в таблице 4, показал достоверное повышение среднесуточных величин САД и ДАД по мере увеличения стажа работы у работников обеих сравниваемых групп.

Наибольшие сдвиги гемодинамических показателей отмечались при стаже работы свыше 15 лет. Так, средние значения среднесуточного САД были выше нормативных показателей (САД 120–129 мм рт. ст., ДАД 80–84 мм рт. ст.) и составили у работников 1 группы, подвергающихся

воздействию шума, 140,7 мм рт. ст., у работников 2 группы, подвергающихся комбинированному воздействию шума и вибрации, – 146,7 мм рт. ст. Среднесуточное диастолическое давление оказалось достоверно выше у стажированных работников 2 группы (91,2 мм рт. ст.) по сравнению с показателями 1 группы (87,1 мм рт. ст.).

Средние величины ЧСС превышали нормативные показатели (60–80 уд/мин) у работников 2 группы (81,5 уд/мин).

У стажированных работников обеих сравниваемых групп (со стажем более 15 лет) показатели ИВ, САД и ДАД, используемые для количественной оценки времени, в течение которого регистрируется повышенное АД, значительно возрастали (в 1,8–2 раза). Наибольшие изменения данных показателей отмечены у работников, подвергающихся сочетанному воздействию шума и вибрации: у работников этой группы гипертонический ИВ САД увеличился до 61,5 %, гипертонический ИВ ДАД – до 40,8 % по сравнению с работниками 1 группы, у которых гипертонический ИВ САД и ДАД оказался на уровне 54,8 и 35,0 % соответственно ($p < 0,05$).

По мере увеличения стажа работы у обследованных работников отмечались изменения суточного профиля АД. Количество работников с нормальным суточным ритмом («дипперы») снизилось с 70 до 50 % в 1 группе и с 65 до 40 % во второй группе. Тогда как процент работников, относящихся к категории «нон-дипперы» достоверно увеличился в 1 группе с 15 до 36 %, в 2 группе – с 22 до 48 % ($p < 0,05$), что свидетельствовало о нарушении механизмов регуляции АД и увеличении периодов ночной гипертензии.

Показатели степени ночного снижения АД (СНС САД и ДАД) подтверждали нарушения суточного профиля АД и недостаточное его снижение в ночные часы у обследованных работников. Показатели суточного индекса (далее – СИ) достоверно снижались с увеличением стажа работы: у работников 2 группы СИ САД уменьшился с 14,7 до 5,1 %, СИ ДАД с 17,2 до 6,0 % ($p < 0,05$). Аналогичная тенденция прослеживалась у стажированных работников 1 группы: СИ САД снизился до 5,3 %, СИ ДАД – до 6,8 %.

Заключение. Производственный шум и вибрация повышают риск развития АГ в 1,5–1,57 раза и могут рассматриваться в качестве профессиональных факторов риска АГ. Установлена средняя степень профессиональной обусловленности АГ у работающих в условиях воздействия шума и вибрации (RR 1,5–1,57, EF 33,0–34,0 %). Выявлена стажевая зона риска формирования АГ у обследованных работников – достоверные различия с группой контроля по частоте выявления АГ получены при стаже работы в условиях воздействия шума и вибрации 21 год и более.

Анализ данных СМАД выявил изменения суточного профиля АД у обследованных работников, характеризующиеся увеличением периодов дневной и ночной гипертензии по мере увеличения стажа работы, на что указывают показатели гипертонического индекса времени САД и ДАД, суточного индекса САД и ДАД. Полученные данные могут быть использованы для оптимизации алгоритма формирования групп риска развития сердечно-сосудистых осложнений и необходимости своевременного проведения лечебно-профилактических мероприятий.

Сведения о НИР. НИР «Изучение персонифицированного профессионального риска как основа разработки профилактических программ для работников основных отраслей промышленности», регистрационный номер 121090800081-2.

Литература

1. Шастин, А. С. Заболеваемость болезнями системы кровообращения населения трудоспособного возраста в Российской Федерации в 2015–2019 гг. Региональные особенности / А. С. Шастин, В. Г. Газимова, Т. М. Цепилова, О. Л. Малых, В. Г. Панов // Профилактическая медицина. – 2022. – № 25(11). – С. 28–35.

2. Бухтияров, И. В. Условия труда как фактор риска повышения смертности в трудоспособном возрасте / И. В. Бухтияров, Н. Ф. Измеров, Г. И. Тихонова, А. Н. Чуранова, Т. Ю. Горчакова, М. С. Брылева, А. А. Крутко // Медицина труда и промышленная экология. – 2017. – № 8. – С. 43–49.

3. Бойцов, С. А. Сердечно-сосудистые заболевания в Российской Федерации: Основные составляющие смертности и направления профилактики / С. А. Бойцов, С.И.Проваторов // Вестник Росздравнадзора. – 2018. – № 5. – С. 12–18.

4. Тиунова, М. И. Влияние производственного шума на развитие артериальной гипертензии у работников металлургических производств / М. И. Тиунова, Е. М. Власова, А. Е. Носов, О. Ю. Устинова // Медицина труда и промышленная экология. – 2020. – № 60 (4). – С. 264–267.

5. Гимаева, З. Ф. Основные факторы риска и распространенности сердечно-сосудистых заболеваний у работников производства мономеров / З. Ф. Гимаева // Санитарный врач. – 2019. – № 2. – С. 28–31.

6. Чигисова, А. Н. Социально-гигиеническая оценка риска артериальной гипертензии у работников угледобывающих предприятий / А. Н. Чигисова, М. Ю. Огарков, С. А. Максимов // Анализ риска здоровья. – 2017. – № 3. – С. 76–82.

7. Профессиональный риск для здоровья работников (Руководство) / Под ред. Н. Ф. Измерова и Э. И. Денисова. М.: Тривант, 2003. – 448 с.

Preobrazhenskaya E. A., Sukhova A. V.

INDUSTRIAL NOISE AND VIBRATION AS OCCUPATIONAL RISK FACTORS FOR ARTERIAL HYPERTENSION

Federal Budgetary Establishment of Science «Federal Scientific Center of Hygiene named after F. F. Erisman» of the Federal Service for Surveillance on Consumer Protection and Human Wellbeing, Mytishchi, Russia

The relevance of the study is due to the medical and social significance of the problem of prevention of cardiovascular diseases in workers in harmful and (or) dangerous working conditions. An assessment of the risk of arterial hypertension (hereinafter – AH) and indicators of daily blood pressure monitoring (hereinafter – DBPM) in working men under the influence of noise and vibration was carried out. 420 workers of processing plants of Stoilensky GOK and Mikhailovsky GOK exposed to noise (group 1) and 355 underground miners of KMAruda Combine exposed to combined effects of noise and vibration (group 2) were examined. The average degree of occupational hypertension in the surveyed workers was established (RR 1.5–1.57, EF 33.0–34.0 %), therefore noise and vibration can be considered as occupational risk factors for hypertension. According to the DBPM data, changes in the daily blood pressure profile were revealed, characterized by an increase in periods of daytime and nighttime hypertension with an increase in work experience, as indicated by indicators of the hypertensive time index, the daily blood pressure index. The obtained data can be used to optimize the algorithm for the formation of risk groups for the development of cardiovascular complications and the need for timely therapeutic and preventive measures.

Keywords: noise, vibration, male workers, underground miners, enrichment plant workers, cardiovascular system, risk of arterial hypertension, daily blood pressure monitoring.

References

1. Shastin A. S., Gazimova V. G., Tsepilova T. M. et al. Circulatory disease rates in the working-age population of the Russian Federation in 2015–2019: regional features. *Russ J Prev Med.* 2022; 25(11): 28–35. (in Russian)
2. Bukhtiyarov I. V., Izmerov N. F., Tikhonova G. I. et al. Work conditions as a risk factor mortality increase in able-bodied population. *Russ J Occup Health Ind Ecol.* 2017; (8): 43–9. (in Russian)
3. Boytsov S. A., Provatorov S. I. Cardiovascular diseases in the Russian Federation: the main components of mortality and directions of prevention. *Vestn Roszdravnadzora.* 2018; (5): 12–8. (in Russian)
4. Tiunova M. I., Vlasova E. M., Nosov A. E., Ustinova O. Y. Influence of industrial noise on the development of arterial hypertension in workers of metallurgical manufacture. *Russ J Occup Health Ind Ecol.* 2020; (4): 264–7. (in Russian)
5. Gimayeva Z. F. The main risk factors and prevalence of cardiovascular diseases in monomer production workers. *Sanit Doct.* 2019; (2): 28–31. (in Russian)
6. Chigisova A. N., Ogarkov M. Yu., Maksimov S. A. Risk of arterial hypertension in workers employed at coal-mining enterprises: social and hygienic assessment. *Health Risk Anal.* 2017; (3): 76–82. (in Russian)
7. Guidelines for assessing occupational health risks for workers. Organizational and methodological foundations, principles and evaluation criteria: ruk. R 2.2.1766-03. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/901902053> (accessed 13 November 2024).

e-mail для переписки: elenapreob@yandex.ru

Поступила 09.10.2024

Фесенко М. А., Голованева Г. В., Морозова Т. В., Мителева Т. Ю., Федосеева Е. В.

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ТРУДА НА СОСТОЯНИЕ РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВЬЯ МУЖЧИН-РАБОТНИКОВ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЙ ОТРАСЛИ

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н. Ф. Измерова», г. Москва, Россия

Аннотация. Проведена оценка влияния условий труда на состояние репродуктивного здоровья мужчин-работников энергетической отрасли.

Установлено, что до 80,6 % работников подвергаются воздействию электрических и магнитных полей, повышенным уровням шума и вибрации; выявлено воздействие вредных химических веществ на всех рабочих местах, в т. ч. репротоксикантов. У 34,3 % работа связана с физической тяжестью труда.

Распространенность болезней мужской половой системы у работников составляет $10,6 \pm 0,42$ на 100 мужчин. С увеличением стажа статистически значимо увеличивается распространенность болезней этой группы (от $6,71 \pm 0,69$ в группе сравнения до $13,62 \pm 0,86$ на 100 работников со стажем 15 и более лет).

В структуре болезней мужских половых органов доброкачественная гиперплазия предстательной железы составляет 72 %, что значительно превышает данные литературы (Аполихин О. И., 2019). С увеличением стажа частота заболевания растет в 1,5–2 раза. Распространенность хронического простатита не зависит от стажа работы, но увеличивается с возрастом.

Требуется оценка профессионального риска для разработки модели прогнозирования этих нарушений и мер профилактики.

Ключевые слова: репродуктивное здоровье, мужчины-работники, болезни мужской половой системы, вредные производственные факторы, энергетическая отрасль.

Введение. Стратегия развития здравоохранения в Российской Федерации на период до 2025 года предусматривает «...обеспечение безопасных и комфортных условий труда, базирующихся на гигиенических критериях оценки профессионального риска вреда здоровью работников» [1].

Высокая смертность граждан трудоспособного возраста, среди которых 80 % составляет мужская часть населения, является основной причиной низкой продолжительности жизни в России. На этом фоне ухудшение репродуктивного здоровья, состояние которого играет важную роль в демографических показателях, в частности, воспроизводстве населения, является одной из серьезных проблем в современном развитии страны.

К концу XX века в научной литературе накоплены данные о снижении у мужчин количества и качества спермы (уменьшении объема эякулята, уменьшении активности сперматогенеза, аномалий в их морфологии и пр.), а также об увеличении случаев мужского бесплодия, при этом наиболее частым диагнозом являются различные формы идиопатического бесплодия [2].

Причинами мужского бесплодия могут быть: врожденные и приобретенные аномалии органов мочеполовой системы, инфекции мочевых и половых органов, варикоцеле, эндокринные нарушения, генетические аномалии, нарушение иммунного статуса и некоторые др. Решение проблемы мужского бесплодия является одним из нереализованных резервов повышения рождаемости.

Особую озабоченность вызывает снижение количества сперматозоидов (менее 20 млн/мл) у молодых мужчин в возрасте 18–25 лет, что на 15–20 % ниже критериев нормы ВОЗ, при этом снижено и качество спермы. Установлено, что рост частоты врожденных аномалий мужской половой системы (гипоспадии, крипторхизма) и рака яичек связан со снижением концентрации сперматозоидов, который наблюдают в последние годы в разных странах (Великобритания, Дания, Норвегия и др.) [3].

Исследования последних десятилетий говорят о взаимосвязи между снижением качества репродуктивного здоровья мужчин и возрастающим воздействием на организм человека вредных факторов производственной и окружающей среды, образа жизни и др. [2, 3].

Анализ данных отечественной и зарубежной литературы свидетельствует о влиянии вредных производственных факторов на репродуктивное здоровье мужчин. Среди них наибольший вклад оказывают физические факторы (шум, вибрация, ионизирующее и неионизирующее излучение, микроклимат), химический фактор (репротоксиканты, органические растворители, тяжелые металлы и др.), биологический фактор, в частности COVID-19, а также физическая тяжесть и нервно-эмоциональная напряженность труда (стресс, сменная работа др.) [4, 5].

Исследований по оценке влияния рабочей среды в энергетической отрасли на репродуктивное здоровье мужчин крайне мало, в связи с чем необходимо изучение воздействия производственных факторов на репродуктивное здоровье мужчин.

Цель работы – оценка влияния условий труда на состояние репродуктивного здоровья мужчин-работников энергетической отрасли.

Материалы и методы. Для проведения исследования и анализа материала использованы современные социально-гигиенические; эпидемиологические, а также математико-статистические методы обработки материала.

Проведен расчет распространенности хронических непрофессиональных заболеваний по числу болевших лиц, как в сумме по всем заболеваниям, так и отдельно по различным классам болезней. Для каждого показателя рассчитана величина ошибки средней.

Для оценки нарушений репродуктивного здоровья проанализированы базы данных по условиям труда и состоянию здоровья мужчин-работников энергетической отрасли (на примере крупной энергетической компании) – 11 738 человек в возрасте от 18 до 73 лет по результатам периодических медицинских осмотров, проведенных в клинике профессиональных болезней ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицины труда имени академика Н. Ф. Измерова». Анализ включал такие показатели, как возраст, пол, стаж, профессиональный маршрут, диагнозы хронических общесоматических болезней по МКБ-Х, в том числе болезни мужских половых органов (N40-N51 МКБ-Х) и др.

Все участники исследования в зависимости от стажа были распределены на 3 группы: первая – группа сравнения с малым стажем – 1–4 года (2077 чел.); вторая – 5–14 лет (3191 чел.), в третью группу вошли стажированные работники – от 15 и более лет (2101 чел.).

Результаты и их обсуждение. По данным литературы, средний репродуктивный возраст мужчины составляет 14–60 лет. Анализ возрастных характеристик мужчин-работников энергетической компании показал, что 93,4 % всех мужчин-работников находятся в активном трудовом и репродуктивном возрасте от 18 до 59 лет, а на долю стажированных работников пенсионного возраста (60 лет и более) приходится лишь 6,6 % от всех работников. Средний возраст мужчин-работников составил $(42,23 \pm 11,6)$ года. Таким образом, защита репродуктивного здоровья от воздействия вредных производственных факторов для описанных возрастных групп является актуальной и необходимой.

Энергетическая компания оказывает услуги по передаче и распределению электроэнергии, технологическому присоединению потребителей к электрическим сетям. Основными профессиями являются электрослесари по ремонту оборудования распределительных устройств, электромонтеры по ремонту и монтажу кабельных линий электропередачи, эксплуатации распределительных сетей, электромонтеры выездных оперативных бригад, а также водители.

Исследования показали, что работники энергетической компании на рабочих местах подвергаются воздействию комплекса вредных факторов производственной среды (физический, химический) и трудового процесса (тяжесть и напряженность труда). Данные отечественной и зарубежной литературы последних десятилетий показывают влияние описанных вредных производственных факторов на репродуктивное здоровье мужчин [4, 5].

Установлено, что до 80,6 % всех работников подвергаются воздействию физических факторов, среди которых одним из ведущих является воздействие электромагнитных полей промышленных частот (далее – ЭМП ПЧ). На мужчин-работников действуют как электрические и магнитные поля промышленной частоты (50 Гц), так и электромагнитные поля широкополосного спектра и частот (5 Гц – 2 кГц, 2–400 кГц). Воздействию электромагнитных полей различных частот подвергаются работники таких профессий, как электромонтер и слесарь.

Согласно данным литературы, воздействие магнитного поля электрического оборудования и линий электропередачи может повредить клетки Лейдига и изменить секрецию репродуктивных гормонов [6]. Последние исследования показали, что у работников, подвергающихся воздействию ЭМП ПЧ, концентрации половых гормонов – общего тестостерона, свободного тестостерона и глобулина, связывающего половые гормоны, статистически значимо ($p \leq 0,05$) ниже, чем в группе сравнения, что подтверждает влияние длительного действия ЭМП ПЧ на мужскую репродуктивную систему работников электроэнергетической отрасли [7].

Более половины работников (52 %) подвергаются воздействию вибрации (как общей, так и локальной); 19 % – воздействию повышенных уровней шума, связанных с работой технологического оборудования.

Как показывают данные литературы, вибрация является неблагоприятным производственным фактором, влияющим на мужскую репродуктивную систему. Воздействие вибрации способствует снижению образования гонадотропных гормонов, тестостерона, эстрадиола, а также приводит к снижению секреторной активности предстательной железы [8].

Отдельные работы о влиянии производственного шума на репродуктивное здоровье мужчин показывают, что при воздействии шума высокой интенсивности происходят изменения в нейроэндокринной системе – стимуляция передней доли гипофиза способствует нарушению циркадного ритма секреции гонадотропинов (лютеинизирующего и фолликулостимулирующего гормона, пролактина), что может приводить к нарушениям репродуктивной функции [9].

Почти все работники энергетической компании подвергаются на рабочих местах воздействию комплекса вредных химических веществ, к которым относятся: оксид углерода; бензол и его производные (толуол, ксилол, стирол и пр.); альдегиды алифатические (предельные и непредельные) и ароматические углеводороды (формальдегид, ацетальдегид, акролеин, бензальдегид, фталевый альдегид и др.); а также смеси углеводородов: нефти, бензины, керосины, уайт-спирит, мазуты, битумы, асфальты, каменноугольные и нефтяные смолы, пеки, возгоны каменноугольных смол и пеков, масла минеральные (не полностью очищенные минеральные масла, сланцевые смолы и масла). Воздействие такого широкого спектра химических веществ характерно для большинства профессий организации, включая водителей, и что особенно важно – в этот перечень входят и репротоксиканты (такие как бензины, формальдегиды) [5].

Анализ показал, что более чем у трети (34,3 %) мужчин-работников репродуктивного возраста (18–59 лет) работа связана с физической тяжестью труда, которая является одним из ведущих вредных факторов трудового процесса. К числу работ, выполняемых сотрудниками, относятся работы, связанные с физической динамической нагрузкой, подъемом и перемещением грузов вручную, наличием рабочих операций, связанных со статической нагрузкой, выполнением стереотипных рабочих движений, работой, выполняемой в вынужденной позе, включая наклоны корпуса, а также с перемещениями в пространстве.

Тяжелые физические нагрузки могут приводить к нарушениям репродуктивного здоровья мужчин. При длительных физических нагрузках цепочка трансформаций ведет к снижению концентрации гонадотропных гормонов в крови и ингибированию активности стероидогенеза в клетках Лейдига и снижению концентрации андрогенов в крови и семенниках. Таким образом, происходит ингибирование сперматогенеза как на центральном, так и на периферическом уровне [10].

Среди прочих факторов также встречается пониженная температура воздуха, как при работе в производственных помещениях, так и на открытых площадках. Данные литературы показывают, что воздействие низких температур приводит к угнетению оплодотворяющей способности клеток, снижению эффективности зачатий, увеличению постимплантационной гибели зародышей [11].

Таким образом, мужчины-работники энергетической организации подвергаются комплексному воздействию вредных производственных факторов, которые, по данным литературы, могут вызывать нарушения репродуктивного здоровья [4, 5].

Условия труда и стаж работы могут влиять на распространенность болезней мужской половой системы у работников энергетической отрасли. Анализ распространенности всех болезней мужских половых органов (N40-N51 МКБ-X) у работников показал, что частота болезней этой группы составила $10,6 \pm 0,42$ на 100 мужчин.

Анализ структуры болезней мужских половых органов у работников показал, что самым распространенным в этой группе болезней был диагноз «гиперплазия предстательной железы» (N40.0 МКБ-X), составляющий 71,89 % от всех болезней мужских половых органов; диагноз «хронический простатит» (N41.1 МКБ-X) составляет почти четверть от всех болезней – 21,95 %; воспалительные болезни предстательной железы неуточненной этиологии (N41.9 МКБ-X) составили 6,03 % от всех диагнозов (таблица 1).

В настоящее время доброкачественная гиперплазия предстательной железы остается одним из самых распространенных патологических состояний мужской репродуктивной системы. В среднем распространенность этой патологии в мире составляет 26,2 %, при этом наибольший показатель отмечен в Японии – 36,6 %, Испании – 30,4 %, Англии – 41,0 % и США – 42,0 %. Этот же источник указывает, что рост заболеваемости гиперплазией предстательной железы с возрастом достигает 70 % у мужчин старше 70 лет [12].

Таблица 1 – Структура болезней мужских половых органов (N40-N51 МКБ-Х) среди работников энергетической компании

№	Болезни мужских половых органов (N40-N51 МКБ-Х)	Доля в структуре, %
1	Доброкачественная гиперплазия предстательной железы (N40.0 МКБ-Х)	71,89
2	Хронический простатит (N41.1 МКБ-Х)	21,95
3	Воспалительная болезнь предстательной железы неуточненная (N41.9 МКБ-Х)	6,03
4	Гидроцеле и варикоцеле (N43-N43.3)	0,13
	Итого	100,00

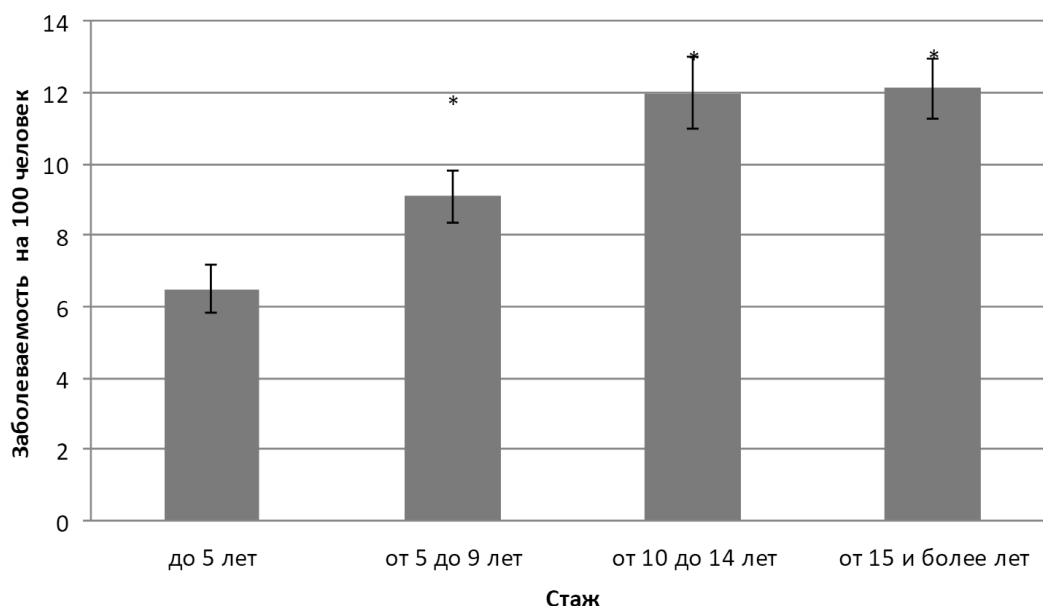
В нашем исследовании диагноз доброкачественная гиперплазия предстательной железы в структуре болезней мужских половых органов работников составляет почти 72 %, что значительно превышает данные литературы (26,2 %), и позволяет предположить влияние вредных производственных факторов.

Болезни предстательной железы (N41.9 МКБ-Х) в структуре болезней мужских половых органов в нашем исследовании составляют 21,95 % от всех болезней, что сопоставимо со средними данными по России – 27 % [12].

Анализ распространенности всех болезней мужских половых органов (N40-N51 МКБ-Х) у работников в зависимости от стажа работы показал, что с увеличением стажа их частота на 100 работников статистически значимо увеличивается – от $6,71 \pm 0,69$ в группе сравнения (стаж 1–4 года) до $13,62 \pm 0,86$ на 100 работников со стажем 15 и более лет.

Частота диагноза «гиперплазия предстательной железы» (N40.0 МКБ-Х), на которую приходится почти 72 % от всех болезней мужских половых органов, с увеличением стажа статистически значимо увеличилась, составив во второй группе (стаж 5–9 лет) $9,1 \pm 0,74$ при $6,50 \pm 0,68$ на 100 работников в группе сравнения ($p < 0,001$). В двух группах стажированных работников (10–14 и 15 и более лет) частота этой болезни была одинакова – $12,00 \pm 1,01$ и $12,12 \pm 0,85$ на 100 работников, но также статистически значимо выше по сравнению с первой и второй стажевыми группами (рисунок 1).

Таким образом, обращает на себя внимание статистически значимое увеличение в полтора-два раза распространенности гиперплазии предстательной железы с увеличением стажа работы во всех группах стажированных работников (10–14 и 15 и более лет), что позволяет предположить влияние вредных производственных факторов и требует дальнейшего накопления данных. Важность выявления взаимосвязи между условиями труда и высокой распространенностью диагноза «доброкачественная гиперплазия предстательной железы» у работников энергетической организации обуславливает то, что работники-мужчины находятся в активном трудовом и репродуктивном возрасте.



* изменения статистически значимы $p < 0,001$.

Рисунок 1 – Распространенность диагноза «гиперплазия предстательной железы» у работников энергетической компании в зависимости от стажа (на 100 работников)

Распространенность диагноза «хронический простатит» (N41.1 МКБ-Х) у работников сопоставима во всех четырех стажевых группах и составляет от $2,79 \pm 0,45$ до $2,98 \pm 0,43$ на 100 работников, т. е. не растет с увеличением стажа. Таким образом, стаж работы не влияет на распространенность болезни «хронический простатит» у работников энергетической компании.

Однако данные о распространенности диагноза «хронический простатит» у работников в зависимости от возраста показывают статистически значимые изменения в каждой возрастной группе.

Заключение. Таким образом, проведенное исследование показало, что основная доля работников энергетической компании (93,4 %) находится в активном трудовом и репродуктивном возрасте – 18–59 лет, что определяет актуальность изучения проблемы.

Установлено, что до 80,6 % работников подвергаются воздействию физических факторов: вибрации, как общей, так и локальной, повышенным уровням шума, а также воздействию электрических и магнитных полей разных частот. Одним из ведущих физических факторов является воздействие на работников электромагнитных полей промышленных частот. Отмечено воздействие вредных химических веществ на всех рабочих местах. Почти у трети (34,3 %) работников репродуктивного возраста (18–59 лет) работа связана с физической тяжестью труда.

Условия труда и стаж работы могут влиять на распространенность болезней мужских половых органов у работников энергетической отрасли, которая составляет $10,6 \pm 0,42$ на 100 мужчин. При этом с увеличением стажа статистически значимо увеличивается распространенность всех болезней этой группы – от $6,71 \pm 0,69$ в группе сравнения (стаж 1–4 года) до $13,62 \pm 0,86$ на 100 работников со стажем 15 и более лет.

Обращает на себя внимание распространенность диагноза «гиперплазия предстательной железы» у работников энергетической компании. В структуре болезней мужских половых органов диагноз «доброкачественная гиперплазия предстательной железы» составляет почти 72 %, что значительно превышает данные литературы [12]. Отмечено, что доброкачественная гиперплазия предстательной железы статистически значимо увеличивается с увеличением стажа работы: в полтора раза в группе 5–9 лет и почти в два раза в обеих группах стажированных работников (10–14 и 15 и более лет).

Стаж работы не влияет на распространенность диагноза «хронический простатит» (N41 МКБ-Х), частота которого сопоставима во всех стажевых группах (в среднем $2,79 \pm 0,45$ на 100 работников), хотя установлены статистически значимые изменения в зависимости от возраста.

Рост частоты болезней половых органов мужчин с возрастом соответствует картине изменений в мужской репродуктивной системе в целом, но с увеличением стажа влияние вредных производственных факторов может провоцировать развитие этих болезней и/или вызывать обострение уже имеющихся.

Для подтверждения взаимосвязи между условиями труда и высокой распространенностью общего числа болезней мужских половых органов, в частности доброкачественной гиперплазии предстательной железы, у работников энергетической отрасли требуются дальнейшие исследования, включающие оценку профессионального риска и разработку модели прогнозирования этих нарушений для последующей разработки мер профилактики.

Сведения о НИР. НИР «Научное обоснование системы управления профессиональным риском нарушений репродуктивного здоровья мужчин, работающих во вредных и опасных условиях», регистрационный номер FGFE – 2022-003 (122040600035-1).

Литература

1. О Стратегии развития здравоохранения в Российской Федерации на период до 2025 года : Указ Президента Рос. Федерации от 06 июня 2019 г. № 254 // КонсультантПлюс. Россия : справ. правовая система (дата обращения: 10.07.2023).

2. Эндогенные и экзогенные факторы, влияющие на мужскую фертильность / Н. А. Литвинова, А. И. Лесникова, Т. А. Толочко, А. А. Шмелева // *Фундаментальная и клиническая медицина*. – 2021. – Т. 6, № 2. – С. 124–135.

3. Maric, T. Environmental and occupational exposures associated with male infertility / T. Marić, A. Fučić, A. Aghayanian // *Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju*. – 2021. – Vol. 72, № 3. – P. 101–113.

4. Влияние вредных производственных физических факторов на репродуктивное здоровье работников-мужчин / М. А. Фесенко, Г. В. Голованева, Т. Ю. Мителева, П. А. Вуйцик // *Медицина труда и промышленная экология*. – 2023. – Т. 63, № 8. – С. 528–536.

5. Фесенко, М. А. Репродуктивные нарушения у работников-мужчин при действии химического производственного фактора / М. А. Фесенко, Г. В. Голованева, Т. Ю. Мителева // Медицина труда и промышленная экология. – 2024. – Т. 64, № 8. – С. 531–541.

6. Kaur, P. Genotoxic risks to male reproductive health from radiofrequency radiation / P. Kaur, U. Rai, R. Singh // *Cells*. – 2023. – Vol. 12, № 4. – P. 594. – DOI: 10.3390/cells12040594.

7. Влияние электромагнитных полей промышленной частоты на мужскую репродуктивную систему / Л. П. Кузьмина, А. А. Кислякова, Л. М. Безрукавникова [и др.] // Медицина труда и промышленная экология. – 2022. – Т. 62, № 6. – С. 397–402.

8. Penkov, A. Effect of vibrations on male reproductive system and function / A. Penkov, D. Tzvetkov // *Central European Journal of Public Health*. – 1999. – Vol. 7, № 3. – P. 149–154.

9. Производственный шум / С. Б. Алексеев, М. Л. Хаймович, Е. Н. Кадыскина, Г. А. Суворов. – Л. : Медицина, 1991. – 135 с.

10. Колычева, И. В. К оценке напряженности трудового процесса у лиц опасных профессий / И. В. Колычева, Г. М. Бодиенкова, А. В. Лизарев // Бюллетень ВЦНЦ СО РАМН. – 2005. – № 2. – С. 40–45.

11. Васильев, В. С. Морфометрические и кинетические показатели спермы человека до и после воздействия низких температур при различных состояниях сперматогенеза / В. С. Васильев // Здоровье мужчины. – 2009. – № 2. – С. 184–186.

12. Болезни предстательной железы в Российской Федерации: статистические данные 2008–2017 гг. / О. И. Аполихин, В. А. Комарова, А. А. Никушина, А. В. Сивков // Экспериментальная и клиническая урология. – 2019. – № 2. – С. 4–13.

Fesenko M. A., Golovaneva G. V., Morozova T. V., Miteleva T. Y., Fedoseeva E. V.

THE IMPACT OF WORKING CONDITIONS ON THE MALE WORKERS' REPRODUCTIVE HEALTH IN THE ENERGY INDUSTRY

*Federal State Budgetary Institution «Izmerov Research Institute of Occupational Health»,
Moscow, Russia*

The study was conducted to identify the occupational risk of reproductive health disorders in male employees of the energy industry.

Exposure to harmful chemicals has been detected in all workplaces; up to 80.6 % of employees are exposed to vibration, increased noise levels, electric and magnetic fields. For 34.3 %, work is associated with the physical severity of work.

The prevalence of the male reproductive system diseases in workers is 10.6 ± 0.42 per 100 men. With working experience increasing, the prevalence of diseases in this group increases statistically significantly (6.71 ± 0.69 in the comparison group and 13.62 ± 0.86 per 100 employees with working experience 15 years or more).

In the structure of diseases of the male genital organs, benign prostatic hyperplasia accounts for 72 %, which significantly exceeds the literature data. With an increasing of working experience, the incidence of the disease increases 1.5–2 times. The prevalence of chronic prostatitis does not depend on the working experience.

An occupational risk assessment is required to develop a model for predicting these disorders and preventive measures development.

Keywords: reproductive health, male workers, the male reproductive system diseases, harmful occupational factors, the energy industry.

References

1. About the Strategy for the development of healthcare in the Russian Federation for the period until 2025: Ukaz Prezidenta Ros. Federacii ot 06 iyunya 2019 g. № 254. Konsul'tantPlyus. Rossiya: Sprav. pravovaya sistema (accessed 10 July 2023). (in Russian)

2. Litvinova N. A., Lesnikova A. I., Tolochko T. A., Shmeleva A. A. Factors affecting male fertility: a review. *Fundam Clin Med*. 2021; 6(2): 124–35. (in Russian)

3. Marić T., Fučić A., Aghayanian A. Environmental and occupational exposures associated with male infertility. *Arh Hig Rada Toksikol*. 2021; 72(3): 101–13.

4. Fesenko M. A., Golovaneva G. V., Miteleva T. Yu., Vuicik P. A. The influence of harmful occupational physical factors on the male workers' reproductive health. *Russ J Occup Health Ind Ecol*. 2023; 63(8): 528–36. (in Russian)

5. Fesenko M. A., Golovaneva G. V., Miteleva T. Yu. Reproductive disorders in male workers under the influence of a chemical production factor. *Russ J Occup Health Ind Ecol.* 2024; 64(8): 531–41. (in Russian)
6. Kaur P., Rai U., Singh R. Genotoxic risks to male reproductive health from radiofrequency radiation. *Cells.* 2023; 12(4): 594. DOI: 10.3390/cells12040594.
7. Kuzmina L. P., Kisljakova A. A., Bezrukavnikova L. M. et al. The influence of electromagnetic fields of industrial frequency on the male reproductive system. *Russ J Occup Health Ind Ecol.* 2022; 62(6): 397–402. (in Russian)
8. Penkov A., Tzvetkov D. Effect of vibrations on male reproductive system and function. *Cent Eur J Public Health.* 1999; 7(3): 149–54.
9. Alekseev S. B., Hajmovich M. L., Kadyskina E. N, Suvorov G. A. Industrial noise. Leningrad: Medicina; 1991. (in Russian)
10. Kolycheva I. V, Bodienkova G. M., Lizarev A. V. On strain assessment of working process in the persons of dangerous occupations. *Acta Biomed Sci.* 2005; 2: 40–5. (in Russian)
11. Vasil'ev V. S. Morphometric and kinetic parameters of human sperm before and after exposure to low temperatures in various states of spermatogenesis. *Zdorov'e muzhchiny.* 2009; 2: 184–186. (in Russian)
12. Apolihin O. I., Komarova V. A., Nikushina A. A., Sivkov A. V. Prostate diseases in the Russian Federation: statistical data for 2008–2017. *Exp Clin Urology.* 2019; 2: 4–13. (in Russian)

e-mail для переписки: marnast@mail.ru

Поступила 07.10.2024

УДК 613.6.02:331.473

Шлыгин В. В., Киселев С. М.

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ПОДХОДОВ К ОЦЕНКЕ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ВРЕДНОСТИ НА РАБОЧИХ МЕСТАХ В УСЛОВИЯХ СОЧЕТАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ

*Федеральное государственное бюджетное учреждение «Государственный научный центр
Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр
имени А. И. Бурназяна», г. Москва, Россия*

Аннотация. На производстве работник подвергается сочетанному воздействию факторов внешней среды. Потенциал их совместного действия должен быть оценен для каждого работника, что позволит в дальнейшем правильно интерпретировать результаты исследований состояния здоровья и планировать меры по профилактике и предупреждению заболеваний. В настоящей работе предложен усовершенствованный подход к интегральной оценке производственной вредности на рабочих местах, учитывающий совокупность факторов вредности производственной среды с учетом потенциала их действия на работника. Предложенный интегральный показатель вредности служит для общей количественной оценки отклонения фактических условий труда от допустимых с учетом «веса» каждого класса условий труда по всем оцененным факторам вредности.

Ключевые слова: интегральный показатель вредности, условия труда, производственная среда.

Введение. В настоящее время активно внедряются в практику методы молекулярной и клеточной диагностики для оценки и раннего выявления донозологических патологических состояний персонала с целью увеличения профессионального долголетия в различных областях промышленности [1, 2]. Поиск взаимосвязи оцениваемых в эксперименте биоиндикаторов состояния здоровья персонала с параметрами производственной среды является важной задачей гигиенической науки. Вместе с тем адекватно охарактеризовать «вредный потенциал» рабочей среды является трудной задачей. Сложность заключается в том, что часто не представляется возможным выделить отдельно действующий фактор и связать с ним фиксируемый в эксперименте эффект воздействия. Известно, что в процессе производственной деятельности работник подвергается воздействию факторов рабочей среды и трудового процесса, которые могут быть вредными и опасными. Исходя из степени отклонения фактических уровней рабочей среды и трудового процесса от гигиенических нормативов, условия труда

по степени вредности и опасности условно подразделяются на 4 класса: оптимальный, допустимый, вредный (степень 3.1; 3.2; 3.3; 3.4), опасный (экстремальный) класс условий труда. Поиск подходов к оценке профессиональных рисков является актуальной задачей и обсуждается в научной среде [3, 4]. Настоящая работа является продолжением этих исследований. Нами предложен модифицированный подход к характеристике и представлению производственной вредности на рабочих местах, учитывающей совокупность воздействующих факторов производственной среды.

Цель работы – совершенствование подходов к оценке производственной вредности в условиях сочетанного воздействия вредных факторов.

Материалы и методы. Объектом исследования являлся персонал двух цехов предприятия с разным характером производственной деятельности. Рабочий процесс на производстве связан с использованием ядерных материалов и радиоактивных веществ, эксплуатацией радиационных источников, в т. ч. генерирующих источников ионизирующего излучения. Исходными данными для интегральной оценки профессиональной вредности на рабочих местах являлись результаты специальной оценки условий труда (далее – СОУТ), проведенной на предприятии, с указанием класса вредных условий труда (таблица 1).

Таблица 1 – Оценка вредных факторов на рабочих местах цехов предприятия (по данным СОУТ, доли от количества обследованных рабочих мест)

Факторы производственной среды и трудового процесса	Цех № 1	Цех № 2
Ионизирующее излучение	78 % (40 % – 3.3); 38 % – 3.2)	–
Вибрация (локальная)	3 % (3.2)	–
Шум	3 % (3.2)	–
Химические факторы (органические вещества, токсичные металлы)	5,4 % (3.1)	–
Тяжесть трудового процесса	29 % (3.2)	25 % (3.2)
Напряженность трудового процесса	57 % (3.2)	75 % (3.2)

Результаты и их обсуждение. Класс условий труда по комплексному воздействию вредных и опасных факторов, определяемый в соответствии с Приказом Министерства труда и социальной защиты РФ от 24.01.2014 № 33 н, малопригоден для детального анализа ситуации, так как дает грубую количественную оценку без учета «веса» каждой группы факторов производственной вредности. В качестве альтернативы общепринятым методам может быть предложен интегральный показатель вредности (далее – ПВ) [3, 4] (формула 1):

$$ПВ = 0,5 \left[\sum_{i=1}^m V_i - 2 \cdot m \right], \quad (1)$$

где ПВ – интегральный показатель вредности для данного рабочего места, баллы;

m – количество вредных факторов, оцененных в рамках СОУТ;

i – порядковый номер вредного фактора;

V – взвешивающий коэффициент, учитывающий вредность i-го класса условий труда.

Значения взвешивающих коэффициентов приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Значения взвешивающих коэффициентов, соответствующих классам условий труда [3, 4]

Характеристика условий труда	Класс условий труда	Взвешивающий коэффициент
Оптимальные	1	2
Допустимые	2	2
Вредные	3.1	4
	3.2	8
	3.3	16
	3.4	32
Экстремальные	4	64

Комплексная оценка условий труда может быть осуществлена в соответствии с таблицей 3.

Таблица 3 – Уровни условий труда на производстве в зависимости от значения ПВ [3, 4]

Диапазон значений ПВ	Уровень условий труда
1–2	Вредные
3–6	Очень вредные
7–14	Неприемлемо вредные
15–30	Опасные
31 и более	Высокоопасные

Результаты оценки условий труда персонала исследуемых цехов приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Оценка потенциальной профессиональной вредности на рабочих местах по классу условий труда и интегральному показателю вредности (на примере персонала исследуемых цехов предприятия)

Цех	Класс условий труда	Диапазон ПВ
№ 1	3.1	1
№ 1	3.2	От 3 до 10
№ 1	3.3	От 10 до 11
№ 2	3.2	От 1 до 4

Как видно из таблицы 4, одному и тому же классу условий труда могут соответствовать различные градации ПВ, что говорит о большей чувствительности интегрального показателя к реальным условиям, чем класс условий труда, оцененный по СОУТ.

На рисунке 1 представлены результаты, характеризующие численность персонала в двух исследуемых цехах, занятого в различных условиях вредности в соответствии с интегральным показателем. Рассчитанные интегральные показатели вредности свидетельствуют в пользу того, что персонал цеха № 1 работает в более вредных условиях труда по сравнению с работниками цеха № 2. При этом в каждом из исследуемых цехов персонал представлен в разных подгруппах с разным уровнем потенциальной вредности (вредные, очень вредные, неприемлемо вредные условия труда) от совокупности факторов рабочей среды и трудового процесса.

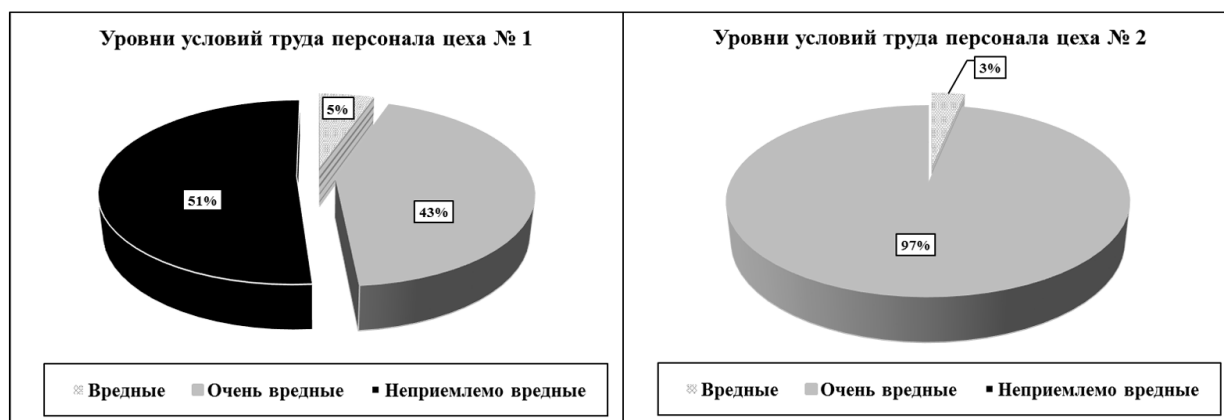


Рисунок 1 – Структура численности персонала цехов № 1 и № 2, работающего в различных условиях вредности

Концепция представленного показателя вредности делает возможной выявление структуры потенциальных вредных производственных факторов. Это возможно за счет того, что формула вычисления ПВ, по сути, представляет собой арифметическую сумму баллов. Методика определения итогового класса условий труда предполагает вычисление максимального значения.

Структура потенциальных вредных производственных факторов по цехам № 1 и № 2 приведена на рисунке 2.

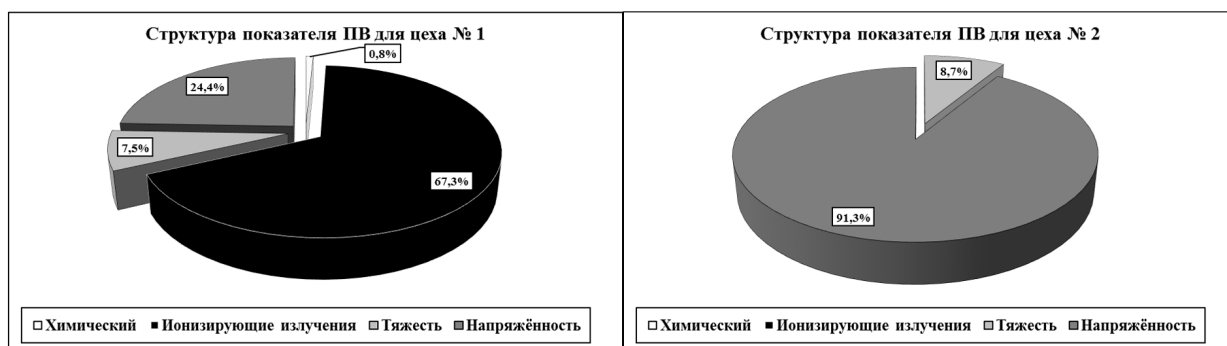


Рисунок 2 – Структура потенциальных вредных производственных факторов в исследуемых цехах

Заключение. Усовершенствован подход к оценке производственной вредности с учетом сочетанного воздействия вредных факторов производственной среды и трудового процесса на основе данных специальной оценки условий труда. Подход апробирован на одном из радиационно-опасных предприятий. Интегральный показатель может быть применен в качестве индикатора профессиональной вредности при анализе взаимосвязи качества производственной среды и состояния здоровья персонала.

Литература

1. Распространенность, структура и особенности алерго- и иммунопатологии персонала предприятия по обращению с радиоактивными отходами / С. В. Царев, Н. И. Ильина, Л. В. Лусс [и др.] // Медицинская радиология и радиационная безопасность. – 2017. – Т. 62, № 3. – С. 17–25.
2. Sycheva, L. P. Cytogenetic analysis (buccal micronucleus cytome assay) of radioactive waste management workers / L. P. Sycheva, S. M. Kiselev, N. K. Shandala // Mutation Research. Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis. – 2021. – DOI: 10.1016/j.mrgentox.2021.503403.
3. Измеров, Н. Ф. Разработка методики расчета вероятности утраты работником трудоспособности в зависимости от состояния условий труда на рабочем месте : отчет о НИР (заключ.) / ГУ НИИ медицины труда РАМН ; рук. Н. Ф. Измеров ; исполн.: Л. В. Прокопенко, Н. И. Симонова, Н. И. Измерова [и др.]. – М., 2008. – 86 с.
4. Щекина, Е. В. Оценка индивидуального профессионального риска для работников литейного производства на основе методики расчета вероятности утраты работником трудоспособности в зависимости от состояния условий труда на рабочем месте / Е. В. Щекина, В. В. Масленский // Молодой исследователь Дона. – 2018. – № 4. – 170–179.

Shlygin V. V., Kiselev S. M.

IMPROVEMENT OF APPROACHES TO THE ASSESSMENT OF OCCUPATIONAL EXPOSURES AT WORKPLACES UNDER CONDITIONS OF COMBINED EXPOSURE TO ENVIRONMENTAL FACTORS

Federal State Budgetary Institution «State Scientific Center of the Russian Federation – Federal Medical Biophysical Center named after A. I. Burnazyan», Moscow, Russia

Workers are exposed to combined environmental factors. The potential of their combined action should be assessed for each worker, which will allow further correct interpretation of the results of health studies and planning of measures for disease prevention and avoidance. In this paper we propose an improved approach to the integral assessment of occupational hazards at workplaces, taking into account the sum of harmful factors of the work environment in regard to the potential of their action on the worker. The proposed integral indicator of harmfulness serves for the general quantitative assessment of the deviation of actual working conditions from permissible ones, taking into account the «weight» of each class of working conditions for all assessed factors of harmfulness.

Keywords: integral index of harmfulness, working conditions, production environment.

References

1. Tsarev S. V., Il'ina N. I., Luss L. V. et al. Prevalence, structure and features of allergic and immunopathology of personnel of a radioactive waste management enterprise. *Med Radiol Radiat Saf.* 2017; 62(3): 17–25. (in Russian)

2. Sycheva L. P., Kiselev S. M., Shandala N. K. Cytogenetic analysis (buccal micronucleus cytome assay) of radioactive waste management workers. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2021. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2021.503403.

3. Izmerov N. F. Development of a methodology for calculating the probability of an employee losing his ability to work depending on the state of working conditions in the workplace: research report (conclusion) / GU NII mediciny truda RAMN; ruk. N. F. Izmerov; ispoln.: L. V. Prokopenko, N. I. Simonova, N. I. Izmerova et al. Moscow, 2008. (in Russian)

4. Shekina E. V., Maslenskiy V. V. Assessment of individual professional risk to foundry workers on the basis of calculation method of loss of work capacity probability of the worker depending on the state of labor conditions at the workplace. *Young Res Don*. 2018; 4: 170–179. (in Russian)

e-mail для переписки: sm_kiselev@mail.ru

Поступила 21.10.2024

Раздел 6

ТОКСИКОЛОГИЯ

УДК 615.076.9:[578.834.1:615.37](476)

Бердина Е. Л., Гапанович В. Н., Андреев С. В., Филонюк В. А.¹,

Павлов К. И.¹, Елисеенко А. Н., Мельник Д. К., Жолудева Д. А.

ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИКО-ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ И ВЛИЯНИЯ НА ОРГАН ЗРЕНИЯ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ВАКЦИНЫ БЕЛКОВИДВАК ПРИ ВНУТРИМЫШЕЧНОМ ВВЕДЕНИИ КРОЛИКАМ. СООБЩЕНИЕ 4

Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр ЛОТИОС»,

г. Минск, Республика Беларусь

¹Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,

г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Изучение токсико-фармакологических свойств отечественной инактивированной цельновирioнной вакцины БелКовидВак, в том числе и в отношении органа зрения, при повторном (2-кратном) внутримышечном введении кроликам New Zealand White не выявило ее отрицательного воздействия на общее состояние и поведение животных. Не установлена способность нового отечественного иммунобиологического препарата оказывать токсические эффекты на прирост массы тела кроликов, показатели цитогематологического анализа крови и сосудисто-тромбоцитарного звена системы гемостаза, морфоструктуру, а также весовые коэффициенты основных органов жизнеобеспечения. Зарегистрировано полное отсутствие токсического влияния БелКовидВак на орган зрения экспериментальных животных при проведении доклинических исследований в соответствии с используемым дизайном.

Ключевые слова: вакцина БелКовидВак, вакцина VeroCell, кролики линии New Zealand White, цитогематологические и гемостазиологические показатели, весовые коэффициенты, орган зрения.

Введение. Практически молниеносное распространение нового возбудителя коронавирусной инфекции SARS-CoV-2, которая признана Всемирной организацией здравоохранения (далее – ВОЗ) пандемией, огромное количество зараженных и высокий процент неблагоприятных исходов, сложная прогнозируемость клинического течения и развития осложнений, отсутствие подходов к этиотропному лечению делают чрезвычайно актуальной проблему разработки профилактических мероприятий, а именно – вакцины для медицинской профилактики COVID-19. Ее решение стало настолько актуальным, что побудило ведущих ученых-специалистов в области биотехнологии, фармацевтики, вирусологии, процессинга получения лекарственных препаратов большинства индустриально развитых стран включиться в разработку и освоение в производстве собственных вариантов создания вакцин, что позволяет реально обеспечить эпидемическую безопасность конкретной страны и соответствует рекомендациям ВОЗ.

Существующая схема медико-биологических испытаний разрабатываемой вакцины для человека, являясь новой для медицинской науки и фармацевтической промышленности нашей страны, основана на результатах длительных отечественных и зарубежных исследований лекарственных средств и предусматривает всестороннюю доклиническую оценку ее токсико-фармакологических свойств при различных режимах воздействия на организм лабораторных животных.

К тому же в соответствии с международными требованиями и рекомендациями регуляторного органа (Министерство здравоохранения Республики Беларусь) в обязательном порядке необходимо дать оценку влияния разрабатываемой вакцины на орган зрения.

Цель работы: изучить токсико-фармакологические свойства и влияние на орган зрения образцов первой опытно-промышленной серии отечественной инактивированной цельновирioнной вакцины БелКовидВак, разработанной для профилактики инфекции, вызываемой SARS-CoV-2, при их повторном (2-кратном) внутримышечном введении в терапевтической иммунизирующей дозе кроликам линии New Zealand White.

Материалы и методы. Настоящее исследование выполнено на половозрелых аутбредных кроликах New Zealand White (статус SPF) разводки НПП «Питомник лабораторных животных» ФИБХ РАН (Россия, Московская область, г. Пущино), из которых формировали 2 опытные и 1 контрольную серии (по 5 самцов и 5 самок в каждой) для внутримышечного введения разработанной вакцины (БелКовидВак, с. 010323; ОАО «БелВитунифарм», РУП «Белмедпрепараты», Республика Беларусь») и референтного препарата сравнения (образцы коммерческой вакцины VeroCell, Inactivated, с. 202110B3818; Beijing Institute of Biological Products Co. Ltd, Китай), а также взятого в качестве контрольного препарата натрия хлорид, раствор для инъекций изотонический, 9 мг/мл (0,9%-й NaCl, с. 060522; ОАО «БЗМП», Республика Беларусь) – в дозе 0,5 мл/на животное. Кратность введения: 2-кратно – на 1 и 15 сутки эксперимента (место введения препарата предварительно выстригалось), период наблюдения за животными – 28 суток. Исследование проводили отдельно для самцов и самок.

Дизайн эксперимента включал:

– клинический осмотр: в день 1-го и 2-го введения – через 5 и 30 минут, затем – через 1, 4 и 6 часов, а также ежедневно на протяжении всего периода наблюдений, с регистрацией параметров интоксикации (двигательная активность, состояние волосяного покрова, глазные симптомы, тремор, судороги, уринация, дефекация, саливация и дыхание) и визуальной оценкой наличия признаков местнораздражающего действия – эритема (в баллах) и отека (+/-);

– офтальмологическое исследование: перед первым введением, за 1 сутки перед вторым введением препаратов и за 1 сутки перед эвтаназией. В ходе рандомизации проводили первичный осмотр для отбора здоровых, без признаков офтальмологических дефектов животных, используемых в эксперименте (всего изучено состояние 44 кроликов: 22 самца и 22 самки); по его завершению из образцов тканей органа зрения готовились гистологические препараты правого и левого глаза каждого экспериментального кролика для анализа возможного эффекта иммунизации на орган зрения;

– взвешивание животных: 6 раз в течение всего периода наблюдения (за 1 неделю до начала введений, в день 1-го и 2-го введения, а также на 8, 22 и 29 сутки исследования); масса тела животного непосредственно перед некропсией (была использована для расчета процентного отношения массы органов к массе тела – весовых коэффициентов);

– взятие проб крови: осуществляли из краевой вены уха кролика для изучения гематологических и гемостазиологических показателей до 1-го введения исследуемых препаратов и за 1 сутки перед 2-м введением, а также по окончании эксперимента непосредственно перед эвтаназией;

– эвтаназию животных проводили на 29 сутки эксперимента путем воздушной эмболии внутривенно. После эвтаназии все животные вскрывались, осуществлялся тщательный осмотр грудной и брюшной полостей на наличие выпота, внутренние органы (сердце, почки, селезенка, желудок, надпочечники, печень, тимус, подчелюстные лимфоузлы, легкие и головной мозг) извлекались, взвешивались (парные органы вместе), после чего проводилось их макроскопическое описание.

Для статистической обработки полученных данных применяли описательную статистику, рассчитывали среднее значение (M) и стандартную ошибку среднего ($\pm m$), анализ проводили с использованием пакета программ GraphPad Prism 7 (лицензия/серийный № GP7-1095667-RIOM-D4F5F). Различия определяли как достоверные при уровне значимости $p < 0,05$ и отмечали значком *.

Исследования выполнены в соответствии с нормативно-методическими документами, устанавливающими требования к проведению экспериментальных исследований вакцин с использованием лабораторных животных [1–7].

Результаты и их обсуждение. На протяжении 28-дневного периода наблюдения после 2-кратного (с интервалом 14 суток) внутримышечного введения разрабатываемой вакцины БелКовидВак и референтного препарата VeroCell в дозе 0,5 мл на животное гибель и признаки интоксикации у кроликов опытных и контрольной серий не зарегистрированы.

В ходе исследования установлено, что общее состояние и поведение кроликов обоего пола опытных серий после двукратного внутримышечного введения сравниваемых противокоронавирусных иммунопрепаратов в используемой дозировке не отличались от таковых у животных контрольной серии, получавших 0,9%-й NaCl по аналогичной схеме, у которых признаков интоксикации также не зарегистрировано. Так, животные опытных и контрольной серий на протяжении всего исследования были активны (в соответствии с биоритмикой кроликов в течение суток), заинтересованно передвигались по клетке для содержания в различных направлениях, не проявляли агрессии к исследователям во время проведения манипуляций; их волосяной покров был гладким, блестящим, показатели груминга, равно как потребление корма и воды – без отклонений. В отслеживаемый период у кроликов

не отмечено нарушений рефлекторной деятельности и болевой чувствительности, видимые слизистые оболочки были обычной окраски и без выделений, животные свободно приобретали необходимую для осуществления жизнедеятельности позу, их дыхание соответствовало обстановке, каких-либо отклонений со стороны мышечной системы (тремор, судороги) не регистрировалось.

На протяжении всего эксперимента при использовании вакцины БелКовидВак и препарата сравнения VeroCell у самцов кроликов не наблюдали достоверных различий в приросте (был положительным) массы тела по сравнению со значениями, зарегистрированными у животных контрольной серии (таблица 1).

В свою очередь у самок кроликов, получавших вакцину БелКовидВак, в контрольной точке измерения «в день 2-го введения» зарегистрировано достоверное увеличение прироста массы тела – на 74,02 % ($p < 0,05$) по сравнению со значениями в контрольной серии животных; у самок кроликов при использовании препарата сравнения VeroCell указанный эффект проявлялся более длительный период: отмечен в точках измерения «через 1 неделю после 1-го введения» – на 57,53 % ($p < 0,05$), «в день 2-го введения» – на 72,75 % ($p < 0,05$) и «через 1 неделю после 2-го введения» – на 45,45 % ($p < 0,05$) по сравнению с животными, получавшими внутримышечные инъекции контрольного препарата (0,9%-й NaCl).

Таблица 1 – Динамика массы тела (г) и ее прироста (%) у кроликов-самцов и кроликов-самок при двукратном внутримышечном введении тестируемых препаратов ($M \pm m$)

Контрольная точка измерения массы тела	Экспериментальная серия		
	Контрольная (0,9%-й NaCl)	1 опытная (БелКовидВак)	2 опытная (VeroCell)
Самцы			
За 1 неделю до 1-го введения (при первичном осмотре офтальмолога), г	2473 ± 78,2	2476 ± 73,0	2476 ± 76,26
В день 1-го введения, г	2586 ± 71,2	2622 ± 58,3	2552 ± 71,93
Прирост, %	4,63 ± 0,70	6,01 ± 1,29	3,19 ± 0,90
Через 1 неделю после 1-го введения, г	2644 ± 80,7	2710 ± 51,1	2626 ± 73,18
Прирост, %	6,942 ± 0,77	9,63 ± 1,91	6,12 ± 1,20
В день 2-го введения, г	2724 ± 73,0	2802 ± 70,2	2690 ± 108,0
Прирост, %	10,22 ± 0,83	13,25 ± 1,28	8,60 ± 2,41
Через 1 неделю после 2-го введения, г	2828 ± 86,7	2894 ± 57,2	2818 ± 81,69
Прирост, %	14,38 ± 0,67	17,03 ± 1,39	13,92 ± 2,18
По окончании эксперимента, г	2850 ± 89,3	2934 ± 63,5	2834 ± 79,54
Прирост, %	15,26 ± 0,65	18,65 ± 1,84	14,61 ± 2,60
Самки			
За 1 неделю до введений (при первичном осмотре офтальмолога), г	2454 ± 166,5	2465 ± 78,42	2438 ± 97,49
В день 1-го введения, г	2572 ± 198,8	2574 ± 74,67	2588 ± 89,63
Прирост, %	4,57 ± 1,12	4,64 ± 0,48	6,26 ± 1,03
Через 1 неделю после 1-го введения, г	2620 ± 197,8	2660 ± 95,66	2686 ± 84,30
Прирост, %	6,57 ± 0,95	7,86 ± 0,60	10,35 ± 1,35*
В день 2-го введения, г	2656 ± 214,4	2804 ± 94,90	2770 ± 114
Прирост, %	7,89 ± 1,58	13,73 ± 0,70*	13,63 ± 1,65*
Через 1 неделю после 2-го введения, г	2754 ± 216,2	2888 ± 108,2	2862 ± 117,8
Прирост, %	11,97 ± 1,58	17,09 ± 0,95	17,41 ± 1,92*
По окончании эксперимента, г	2780 ± 219,5	2926 ± 103,1	2886 ± 122,0
Прирост, %	13,01 ± 1,64	18,67 ± 1,1	18,38 ± 2,08
* достоверность различий по сравнению со значениями показателя у контрольных животных по критерию Dunnett's при $p < 0,05$.			

К окончанию эксперимента достоверных отличий в приросте массы тела у самок опытных серий по сравнению с контрольной не обнаруживалось, равно как в течение всего исследования не отмечено достоверных отличий между всеми экспериментальными сериями кроликов-самок в величине показателя «масса тела».

По нашему мнению, отмеченные изменения в приросте массы тела, регистрируемые на введение чужеродного для организма иммуноксенобиотика, которым являются обе сравниваемые вакцины, вызывают активацию в организме животных систем метаболического гомеостаза, направленных на их депурацию, что сопровождается общей активацией анаболических процессов, вызывая увеличение прироста массы тела. Характерно, что данные явления прослеживались у самок кроликов серии сравнения более длительный временной интервал, начинали проявляться раньше и заканчиваться позже, нежели у животных, получавших внутримышечные инъекции препарата БелКовидВак. Важно и то обстоятельство, что активация систем метаболического гомеостаза, являясь по сути ответной защитной адаптационной реакцией организма, в принципе не может рассматриваться как проявление токсических эффектов последствий действия анализируемых препаратов.

По результатам макроскопического исследования изучаемых органов, забранных в ходе планируемой аутопсии непосредственно после истечения периода 28-дневного наблюдения за экспериментальными животными, существенных различий между животными всех серий эксперимента (равно как и при внутрисерийном сравнении между группами самцов и самок) установлено не было.

Статистический анализ относительной массы внутренних органов кроликов-самцов показал, что спустя две недели после 2-кратного внутримышечного введения БелКовидВак отмечено лишь некоторое увеличение печени – на 20,33 % ($p < 0,05$), тогда как у самок 1 опытной серии никаких отличий от значений изучаемого показателя в соответствующей группе контрольной серии ни по одному из исследуемых органов выявлено не было.

В свою очередь во 2 опытной серии животных на введение референтного препарата вакцины VeroCell в аналогичный временной интервал исследований у самцов кроликов регистрировалась элевация показателя относительной массы желудка на 27,03 % ($p < 0,05$), а в группе самок тимуса – на 61,54 % ($p < 0,05$) по сравнению с значениями соответствующих групп животных контрольной серии. Каких-либо иных значимых эффектов последствий коммерческого препарата сравнения на величину изучаемого показателя остальных органов жизнеобеспечения выявлено не было.

С учетом отмеченного влияния вакцины БелКовидВак на печень самцов при отсутствии такового у кроликов самок, причем без наличия существенных отклонений данного показателя со стороны остальных изученных органов, в том числе иммунной системы, у особей обоего пола, полагаем возможным сделать вывод об отсутствии негативного токсического действия изучаемого препарата на относительную массу тела внутренних органов при его внутримышечном введении животным в используемом дизайне вакцинации.

Изучение цитогематологических показателей крови самцов кроликов показало, что при 2-кратном внутримышечном введении вакцины БелКовидВак в точке наблюдения «через 14 суток исследования» (после первого введения) обнаружено достоверное ($p < 0,05$) увеличение в крови содержания гемоглобина на 9,10 % и 9,95 %, гематокрита – на 11,23 % и 8,93 %, а также относительного количества ретикулоцитов – на 20,21 % и 23,58 %, по сравнению со значениями у животных контрольной серии и исходными данными, соответственно. При этом возрастания количества эритроцитов не отмечали, а значимое повышение количества лейкоцитов в крови ($p < 0,05$) установлено лишь относительно исходных значений. Спустя 2 недели восстановительного периода (после второго введения) в периферической крови самцов, получавших разрабатываемый препарат, никаких изменений со стороны изучаемых показателей относительно таковых в контрольной серии не зарегистрировано; достоверное повышенное относительно изначальных величин количество лейкоцитов, как и в предыдущей временной отметке эксперимента, в обоих случаях не имело значимости отличий от значений, регистрируемых в соответствующий период в группе кроликов-самцов контрольной серии.

В свою очередь анализ динамики изменений по ходу исследования со стороны регистрируемых показателей периферической крови у самцов кроликов, получавших по аналогичной схеме препарат сравнения, через 2 недели после первого введения вакцины VeroCell выявил схожее таковому в 1 опытной серии увеличение относительного содержания молодых форм эритроцитов (на 37,55 %, $p < 0,05$) и количества лейкоцитов (на 27,52 %, $p < 0,05$), а также уменьшение (на 6,45 %, $p < 0,05$) количества красных кровяных телец по сравнению с изначальными значениями в группе. При этом все приведенные выше изменения не имели значимости отличий от соответствующих величин, регистрируемых в этот временной период в контрольной группе кроликов-самцов. А по прошествии следующих двух недель перивакцинального периода (через 14 суток после повторной внутримышечной инъекции) никаких различий относительно соответствующих значений в контрольной серии или исходных данных,

со стороны практически всех регистрируемых показателей периферической крови в группе самцов 2 опытной серии не выявлялось.

В целом схожая картина отсутствия влияния на изучаемые показатели периферической крови в течение всего перивакцинального периода наблюдалась и у самок 1 и 2 опытных серий.

Статистический анализ данных сосудисто-тромбоцитарного гемостаза, полученных в ходе изучения целевых иммуногенных свойств отечественной вакцины БелКовидВак при внутримышечном двукратном введении самцам и самкам кроликов, не выявил достоверных различий по изучаемым показателям – абсолютные значения интегрального показателя агрегации тромбоцитов (U), собственно агрегации (AU) и ее скорости (AU/мин) в течение всего перивакцинального периода не имели статистически значимых отличий от соответствующих значений в сопоставимых группах животных контрольной серии (таблица 2).

Таблица 2 – Показатели сосудисто-тромбоцитарного (первичного, клеточного) гемостаза у кроликов (самцы и самки) при двукратном внутримышечном введении изучаемых препаратов (M ± m)

Экспериментальная серия	Интегральный показатель агрегации, (U)	Агрегация, (AU)	Скорость агрегации, (AU/мин)
Самцы			
Исходные значения (за 1 сутки до 1-го введения)			
Контрольная (0,9%-й NaCl)	39,00 ± 3,847	59,00 ± 6,219	12,26 ± 1,435
1 опытная (БелКовидВак)	33,40 ± 8,548	52,661 ± 2,410	11,22 ± 3,371
2 опытная (VeroCell)	28,20 ± 3,800	46,20 ± 5,816	7,280 ± 0,854
Через 14 суток исследования (за 1 сутки до 2-го введения)			
Контрольная (0,9%-й NaCl)	36,00 ± 7,280	58,361 ± 0,68	11,38 ± 2,988
1 опытная (БелКовидВак)	48,60 ± 5,391	75,74 ± 8,026	15,72 ± 2,293
2 опытная (VeroCell)	35,80 ± 5,678	57,30 ± 8,972	10,44 ± 1,379
Через 28 суток исследования (за 1 сутки до выведения из эксперимента)			
Контрольная (0,9%-й NaCl)	41,80 ± 6,102	69,86 ± 9,512	11,20 ± 1,718
1 опытная (БелКовидВак)	39,60 ± 5,758	67,34 ± 6,847	18,30 ± 4,036
2 опытная (VeroCell)	42,80 ± 7,479	63,82 ± 9,986	15,86 ± 3,338
Самки			
Исходные значения (за 1 сутки до 1-го введения)			
Контрольная (0,9%-й NaCl)	25,40 ± 5,618	37,18 ± 7,757	9,42 ± 2,297
1 опытная (БелКовидВак)	23,00 ± 1,817	37,66 ± 2,599	7,10 ± 0,476
2 опытная (VeroCell)	44,80 ± 3,737	67,96 ± 5,908	14,78 ± 1,243
Через 14 суток исследования (за 1 сутки до 2-го введения)			
Контрольная (0,9%-й NaCl)	24,60 ± 4,202	39,88 ± 6,244	7,06 ± 1,154
1 опытная (БелКовидВак)	38,00 ± 7,778	59,14 ± 11,810	10,48 ± 1,845
2 опытная (VeroCell)	31,80 ± 4,532	50,78 ± 6,847	9,78 ± 1,284
Через 28 суток исследования (за 1 сутки до выведения из эксперимента)			
Контрольная (0,9%-й NaCl)	37,00 ± 3,178	55,74 ± 5,024	12,38 ± 1,635
1 опытная (БелКовидВак)	37,00 ± 4,848	56,48 ± 6,602	11,08 ± 1,786
2 опытная (VeroCell)	44,80 ± 4,964*	68,10 ± 9,030*	13,44 ± 0,291

* достоверность различий по сравнению со значениями показателя у контрольных животных по критерию Dunnett's при $p < 0,05$.

В целом схожая динамика регистрируемых сдвигов была характерна и для групп животных, получавших инъекции коммерческого препарата. Вместе с тем в группе самок 2 опытной серии, которым внутримышечно вводили VeroCell, по окончании периода наблюдений за животными было зарегистрировано хоть и не столь выраженное по абсолютной величине, но статистически значимое увеличение интегрального показателя площади под кривой и собственно агрегации, относительно данных U и AU в сопоставимый временной интервал исследований в группе самок кроликов контрольной серии животных – на 21,08 % ($p < 0,05$) и 22,175 % ($p < 0,05$) соответственно. С учетом того, что скорость агрегации сохранялась на уровне контрольных значений, отмеченные сдвиги можно трактовать как тенденцию к усилению первичного гемостаза, тем более что подобный тренд не был характерен для

самцов кроликов 2 опытной серии. Таким образом, необходимо отметить, что подобная направленность изменений со стороны оцениваемых показателей сосудисто-тромбоцитарного гемостаза на протяжении всего отслеживаемого перивакцинального периода не была характерна для животных обоих полов в случае использования вакцины БелКовидВак.

Результаты проведенного патоморфологического изучения влияния 2-кратного с интервалом 14 суток внутримышечного введения разрабатываемой вакцины БелКовидВак на орган зрения не выявили при сравнительном исследовании с коммерческим препаратом какого-либо негативного влияния на гистоструктуру глаза – оба вакцинальных препарата по эффектам своего последствия не отличались ни между собой, ни по сравнению с контрольным препаратом (0,9%-й NaCl). Также не было выявлено различий в зависимости от пола экспериментальных животных. Во всех образцах отмечалось наличие артефициальных изменений, связанных с фиксацией ткани в 10 % формалине: отслойка нейроретины от пигментного эпителия, расслоение сосудистой оболочки и ее отслоение от склеры.

Заключение. На основании проведенного исследования можно констатировать, что новый отечественный вакцинальный препарат БелКовидВак не только не вызывает гибель животных, но и не обладает способностью генерировать каких-либо визуально отмечаемых изменений со стороны регистрируемых показателей общего состояния и поведения, не оказывает существенного негативного влияния на массу тела самцов и самок кроликов и величину ее прироста, не вызывает системного органотропного токсико-фармакологического действия на все исследованные органы кроликов, включая иммунотропные органы-мишени (тимус, легкие, селезенка, лимфоузлы), что указывает на потенциальную токсикологическую безопасность клинического применения отечественной вакцины.

Введение образцов первой опытно-промышленной серии разработанной вакцины БелКовидВак при использовании схемы иммунизации кроликов, предполагаемой для практического применения, не вызывало выходящих за границы условной нормы для данного вида животных изменений со стороны цитогематологических показателей общего анализа крови, а также сосудисто-тромбоцитарного звена системы гемостаза, не отличалось по эффекту последствия от коммерческих образцов вакцины COVID-19 Vaccine (VeroCell) Inactivated, что указывает на отсутствие у отечественного препарата способности проявлять системное токсическое действие на костномозговое кроветворение.

Проведенное исследование указывает на полное отсутствие токсического влияния отечественного препарата на орган зрения в условиях его доклинического изучения по используемому дизайну.

Сведения о НИР. НИОК(Т)Р «Провести доклинические исследования инактивированной цельновирионной вакцины для медицинской профилактики COVID-19», регистрационный номер 20221840.

Литература

1. Надлежащая лабораторная практика: ТКП 125–2008 (02040). – Введ. 28.03.2008. – Минск : М-во здравоохранения Респ. Беларусь, 2008. – 35 с.
2. Development and licensure of vaccines to prevent COVID-19: guidance for industry / FDA. – [S. I.], 2020. – URL : <https://www.fda.gov/media/139638/download> (date of access: 03.10.2024).
3. Guidance for industry: considerations for developmental toxicity studies for preventive and therapeutic vaccines for infectious disease indications / FDA. – [S. I.], 2006. – URL : <https://www.fda.gov/media/73986/download> (date of access: 03.10.2024).
4. WHO guidelines on nonclinical evaluation of vaccines // WHO expert committee on biological standardization: fifty-second report / World Health Org. – Geneva : WHO, 2005. – Ann. 1. – P. 31–63. – (WHO technical report series ; 927). – URL : https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/43094/WHO_TRS_927_eng.pdf?sequence=1 (date of access: 22.10.2024).
5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические лекарственные препараты): ч. вторая / М-во здравоохранения и соц. развития Рос. Федерации, Науч. центр экспертизы средств мед. применения ; редкол.: А. Н. Миронов [и др.] ; ред. совет: Р. М. Хаитов [и др.]. – М. : Гриф и К, 2012. – 532 с.
6. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях, Страсбург, 18 марта 1986 г. : неофиц. пер. / Совет Европы. – URL: <https://rm.coe.int/168007aba8> (дата обращения: 03.10.2024).
7. Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ : инструкция по применению 1.1.11–12–35–2004 : утв. постановлением Гл. гос. санитар. врача Респ. Беларусь от 14 дек. 2004 г. № 131 / М-во здравоохранения Респ. Беларусь. – Минск, 2004. – 42 с.

Berdina E. L., Gapanovich V. N., Andreyev S. V., Filonyuk V. A. ¹

Pavlov K. I., Eliseenko A. N., Melnik D. K., Zholudeva D. A.

STUDY OF TOXIC-PHARMACOLOGICAL PROPERTIES AND EFFECT ON VISUAL ORGAN OF DOMESTIC VACCINE BELCOVIDVAC IN INTRAMUSCULAR ADMINISTRATION TO RABBITS. MESSAGE 4

*Republican Unitary Enterprise «Scientific and Practical Center LOTIOS»,
Minsk, Belarus*

*¹Educational institution «Belarusian State Medical University»,
Minsk, Belarus*

The study of the toxic and pharmacological properties of the belarussian inactivated whole-virion vaccine BelCovidVac, including in relation to the visual organ, with repeated (2-fold) intramuscular administration to New Zealand White rabbits did not reveal its negative effect on the general condition and behavior of animals. The ability of a new domestic immunobiological drug to have toxic effects on body weight gain in rabbits, indicators of cytohematological blood analysis and the vascular-platelet link of the hemostasis system, morphostructure, as well as the weight coefficients of the main life support organs have not been established. The complete absence of the toxic effect of BelCovidVac on the visual organ of experimental animals was recorded during preclinical studies in accordance with the design used.

Keywords: BelCovidVak vaccine, VeroCell vaccine, New Zealand White rabbits, cytohematological and hemostasiological indicators, weight coefficients, organ of vision.

References

1. Good laboratory practice: (TKP) 125–2008. Minsk; 2008. 34 p. (in Russian)
2. Development and licensure of vaccines to prevent COVID-19: guidance for industry. S. I.; 2020. Available at: <https://www.fda.gov/media/139638/download> (accessed 3 October 2024).
3. Guidance for industry: considerations for developmental toxicity studies for preventive and therapeutic vaccines for infectious disease indications. S. I.; 2006. Available at: <https://www.fda.gov/media/73986/download> (accessed 3 October 2024).
4. WHO guidelines on nonclinical evaluation of vaccines. In: WHO expert committee on biological standardization: fifty-second report. Ann. 1. Geneva; 2005: 31–63. Available at: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/43094/WHO_TRS_927_eng.pdf?sequence=1 (accessed 3 October 2024).
5. Guidelines for conducting preclinical studies of medicinal products (immunobiological drugs). Moscow: Grif i K; 2012. (in Russian)
6. Council of Europe. European convention for the protection of vertebrate animals used for experiments or for other scientific purposes. Strasbourg; 1986. 13 p.
7. Instruction 1.1.11–12–35–2004. Requirements for experimental studies for primary Toxicological assessment and hygienic regulation of substances. Minsk; 2004. 43 p. (in Russian).

e-mail для переписки: lotios@yandex.ru

Поступила 03.10.2024

УДК 615.076.9:[578.834.1:615.37](476)

*Гапанович В. Н., Васильева Е. Н., Андреев С. В., Бердина Е. Л.,
Елисеенко А. Н., Мельник Д. К., Бартош М. А., Усова В. С.*

ОЦЕНКА ОСТРОГО ОБЩЕТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ БЕЛОРУССКОЙ ВАКЦИНЫ БЕЛКОВИДВАК ПРОТИВ КОРОНАВИРУСА SARS-COV-2. СООБЩЕНИЕ 3.

*Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр ЛОТИОС»,
г. Минск, Республика Беларусь*

Аннотация. В ходе проведенного исследования были изучены общетоксические свойства вакцины против коронавируса SARS-CoV-2 инактивированной цельновирионной при однократном внутримышечном введении крысам линии Sprague-Dawley. Было установлено, что отечественная вакцина БелКовидВак не вызывает негативных изменений со стороны общего состояния и поведения экспериментальных животных, их внешнего вида, поведенческих реакций и рефлекторной активности,

цитогематологических и гемостазиологических показателей крови, не оказывает негативного влияния на массу тела животных и динамику ее прироста, также не отмечено системного органотропного токсико-фармакологического действия на основные органы жизнеобеспечения крыс.

Ключевые слова: доклинические исследования, крысы Sprague-Dawley, вакцина БелКовидВак, острое общетоксическое действие, внутримышечное введение.

Введение. С момента обнаружения появления первого пациента, у которого была выявлена инфекция SARS-CoV-2, за очень короткий промежуток времени миллионы инфицированных были зарегистрированы в более чем 200 странах, что позволило Всемирной организации здравоохранения (далее – ВОЗ) охарактеризовать данное инфекционное заболевание как пандемию. Проведенный ВОЗ проспективный анализ зависимости прогноза заболевания от эффективности проводимой терапии позволил установить, что на фоне отсутствия этиотропной терапии COVID-19, высокой контагиозности, в том числе из-за постоянных мутаций SARS-CoV-2, сложной прогнозируемости клинического течения заболевания и развития осложнений, высокого уровня смертности практически единственным эффективным средством борьбы с пандемией является вакцинация. Она способна замедлить распространение вируса, а также сократить масштаб последствий перенесенной инфекции и уменьшить нагрузку на учреждения здравоохранения.

Разработка вакцины является поэтапным процессом, предусматривающим в том числе оценку данных о ее эффективности и безопасности в эксперименте на различных биотест-системах, включая доклинические исследования на лабораторных животных, которые направлены не только на определение биологических характеристик и потенциальных токсических свойств создаваемой вакцины, выявление возможных рисков для вакцинированного населения и помощь в разработке протоколов клинических исследований, но также являются необходимым этапом государственной регистрации готовой лекарственной формы самого препарата.

В Республике Беларусь впервые проведены доклинические исследования образцов опытно-промышленной серии нового отечественного иммунобиологического препарата – вакцины против коронавируса SARS-CoV-2 инактивированной цельновирионной БелКовидВак (ОАО «БелВитунифарм», РУП «Белмедпрепараты»; с. 010323) в соответствии с международными рекомендациями.

Направление проведенных исследований, результаты которых представлены в настоящей статье, соответствует приоритетному направлению № 2 научной, научно-технической и инновационной деятельности на 2021–2025 годы «Биологические, медицинские, фармацевтические и химические технологии и производства: управление здоровьем и средой обитания человека, его здоровое и безопасное питание, активное долголетие» (Указ Президента Республики Беларусь от 07.05.2020 № 156).

Целью исследования являлось изучение острого общетоксического действия вакцины против коронавируса БелКовидВак инактивированной цельновирионной при однократном внутримышечном введении крысам Sprague-Dawley.

Материалы и методы. В данном исследовании были использованы аутбредные крысы обоего пола линии SPF Sprague-Dawley, разводки НПП «Питомник лабораторных животных» ФИБХ РАН (Россия, Московская обл.; г. Пущино), из которых после карантинизации формировали 3 опытные и 1 контрольную серии (по 5 самцов и 5 самок в каждой) для однократного внутримышечного введения, соответственно: изучаемой вакцины (БелКовидВак) – в дозах 0,5 мл/животное (1-кратная предполагаемая доза для человека), 1 мл/животное (2-кратная доза для человека) и 1,5 мл/животное (3-кратная доза для человека), а также раствор для инъекций изотонический 9 мг/мл (0,9%-й NaCl, с. 460522; ОАО «БЗМП», Республика Беларусь) в объеме 1,5 мл/животное, максимально из используемых в эксперименте. Исследование проводили отдельно для самок и самцов. Период наблюдения составил 14 суток (дата введения считалась 1-ми сутками эксперимента).

Дизайн исследования включал:

– проведение клинического осмотра: в день введения – через 5 и 30 минут, затем – через 1, 4 и 6 часов, а также ежедневно на протяжении всего исследования с регистрацией параметров интоксикации – двигательной активности, диуреза (уринации), дефекации, саливации, глазных симптомов, пилоэрекции, болевой реакции хвоста, переворачивания, тремора, судорог, состояния волосяного покрова и дыхания; при этом оценивали наличие признаков местнораздражающего действия – эритема (в баллах) и отек (+/-) визуально;

– взвешивание животных 3 раза в течение периода наблюдения (до введения, на 8 и 15 сутки перед некропсией);

– взятие проб крови из аксиллярного сплетения крыс после предварительной наркотизации (2 %-й раствор натрия тиопентала, 40 мг/кг, в/в; ОАО «Синтез», Россия) для изучения гематологических и гемостазиологических показателей крови (перед эвтаназией);

– эвтаназию животных осуществляли на 15 сутки после обескровливания.

После эвтаназии все животные были вскрыты, проведен тщательный осмотр грудной и брюшной полостей на наличие выпота, органы извлечены, взвешены; проведено макроскопическое описание внутренних органов, их взвешивание и определены весовые коэффициенты.

Исследование проведено сотрудниками отдела экспериментальной медицины и фармации государственного предприятия «НПЦ ЛОТИОС», которые при его выполнении руководствовались требованиями технического кодекса установившейся практики – ТКП 125-2008 «Надлежащая лабораторная практика» [1], гармонизированного с Международными Правилами Надлежащей лабораторной практики Совета Специальной программы по контролю химических продуктов (OECD Principles on Good Laboratory Practice, C(97)186 Final), рекомендациями регуляторного органа – Министерства здравоохранения Республики Беларусь, а также другим нормативным документам, устанавливающими требования к проведению экспериментальных исследований вакцин с использованием лабораторных животных: Руководство для промышленности: разработка и лицензирование вакцин для профилактики COVID-19, июнь 2020 [2]; Руководство для промышленности: исследование токсичности профилактических и терапевтических вакцин для лечения инфекционных заболеваний, февраль 2006 [3]; Рекомендации ВОЗ по доклинической оценке вакцин, Приложение 1, Серия технических отчетов ВОЗ, 2005, 927:31-63 [4]; Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические лекарственные препараты) [5].

Исследование выполнялось в соответствии с требованиями «Европейской конвенции по защите позвоночных, используемых для экспериментальных и иных научных целей» [6].

Для анализа полученных результатов применяли описательную статистику, рассчитывали среднее значение (M) и стандартную ошибку среднего ($\pm m$). Статистический анализ проводили с использованием пакета программ GraphPad Prism 7 (лицензия / серийный № GP7-1095667-RIOM-D4F5F). Различия определяли при уровне значимости $p < 0,05$ по критерию Dunnett's и отмечали значком *.

Результаты и их обсуждение. По данным проведения ежедневного клинического осмотра крыс Sprague-Dawley опытных серий можно констатировать, что новый отечественный препарат не только не вызывал гибель животных, но и не обладал способностью генерировать у них каких-либо визуально отмечаемых изменений со стороны регистрируемых показателей общего состояния и поведения, т. е. не проявлял токсических свойств.

Животные всех экспериментальных серий на протяжении контролируемого периода были активны (в соответствии с биоритмикой крыс в течение суток), заинтересованно передвигались по клетке для содержания в различных направлениях, вставали на задние лапы, не проявляли агрессии друг к другу и к исследователям во время проведения манипуляций; их волосяной покров был гладким, блестящим, показатели груминга, потребление корма и воды, естественных отправлений (дефекация, мочеиспускание) – без видимых отклонений. У всех крыс при введении ни одной из исследуемых дозировок вакцины БелКовидВак не отмечено нарушений рефлекторной деятельности и болевой чувствительности, видимые слизистые оболочки были обычной окраски и без выделений, животные свободно приобретали необходимую для осуществления жизнедеятельности позу, их дыхание соответствовало обстановке, каких-либо отклонений со стороны мышечной системы (тремор, судороги) не регистрировалось.

Визуальная оценка местных реакций в ответ на введение образцов опытно-промышленной серии разрабатываемой вакцины БелКовидВак в исследуемых нарастающих дозах не выявила наличия у крыс-самцов и крыс-самок опытных серий отека и эритемы в месте введения, не наблюдались данные проявления локальной реакции тканей на инъекционное воздействие и у животных контрольной серии.

Проведенное исследование свидетельствует об отсутствии у образца вакцины БелКовидВак способности оказывать токсико-фармакологическое действие на массу тела и динамику прироста массы самцов и самок крыс при однократном внутримышечном введении в диапазоне исследованных доз (по объему) – от 1-кратной до 3-кратной иммунизирующей дозы (таблица 1).

Таблица 1 – Динамика массы тела крыс при однократном внутримышечном введении вакцины БелКовидВак, (M ± m)

Контрольная точка	Экспериментальная серия (группа), доза/крысу			
	контрольная, (1,5 мл 0,9%-й NaCl)	1 опытная, (0,5 мл)	2 опытная, (1,0 мл)	3 опытная, (1,5 мл)
Самцы				
Исходные данные, г	422,0 ± 14,86	420,8 ± 10,97	422,6 ± 15,14	420,8 ± 11,85
Через 7 суток, г	429,0 ± 17,69	434,8 ± 10,34	427,2 ± 11,53	429,2 ± 5,24
Через 14 суток, г	436,0 ± 16,87	446,0 ± 12,16	427,0 ± 10,83	446,0 ± 2,65
Прирост через 7 суток, %	1,60 ± 0,97	3,36 ± 1,28	1,22 ± 1,14	2,20 ± 1,84
Прирост через 14 суток, %	3,28 ± 1,24	6,16 ± 2,60	1,22 ± 2,00	6,40 ± 3,52
Самки				
Исходные данные, г	287,4 ± 4,20	288,0 ± 2,95	289,0 ± 3,94	287,6 ± 3,06
Через 7 суток, г	289,0 ± 4,67	293,0 ± 3,63	293,2 ± 4,47	294,4 ± 6,04
Через 14 суток, г	291,0 ± 4,64	290,4 ± 4,74	292,6 ± 3,83	295,8 ± 5,32
Прирост через 7 суток, %	0,72 ± 1,27	1,72 ± 0,57	1,46 ± 1,01	2,44 ± 2,78
Прирост через 14 суток, %	1,26 ± 1,11	0,82 ± 1,42	1,38 ± 2,62	2,94 ± 2,57

Однократное внутримышечное введение образцов вакцины БелКовидВак в испытанных дозировках по визуально оцениваемому макроскопическому состоянию основных органов жизнеобеспечения организма, равно как и по показателю их относительной массы, не вызывало системного органотропного токсико-фармакологического действия на все исследованные органы крыс (головной мозг, подчелюстные лимфоузлы, тимус, сердце, легкие, желудок, печень, селезенка, почки, надпочечники), включая иммунотропные к действию чужеродного агента органы-мишени (тимус, легкие, селезенка, лимфоузлы), указывая на потенциальную токсикологическую безопасность клинического применения разрабатываемого препарата (таблицы 2 и 3).

Таблица 2 – Относительная масса внутренних органов крыс-самцов при однократном внутримышечном введении вакцины БелКовидВак (M ± m)

Исследуемый орган	Экспериментальная серия (группа), доза/крысу			
	контрольная, (1,5 мл 0,9%-й NaCl)	1 опытная, (0,5 мл)	2 опытная, (1,0 мл)	3 опытная, (1,5 мл)
Тимус	0,06 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,06 ± 0,01
Сердце	0,32 ± 0,01	0,34 ± 0,01	0,33 ± 0,01	0,32 ± 0,02
Легкие	0,45 ± 0,07	0,63 ± 0,11	0,61 ± 0,17	0,55 ± 0,08
Печень	3,21 ± 0,04	3,50 ± 0,16	3,05 ± 0,15	3,31 ± 0,08
Селезенка	0,23 ± 0,01	0,24 ± 0,01	0,23 ± 0,01	0,23 ± 0,01
Почки	0,64 ± 0,02	0,65 ± 0,00	0,67 ± 0,03	0,67 ± 0,03
Надпочечники	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Головной мозг	0,42 ± 0,02	0,39 ± 0,01	0,37 ± 0,02	0,38 ± 0,01
Желудок	0,43 ± 0,01	0,47 ± 0,01	0,44 ± 0,03	0,43 ± 0,01
Подчелюстные лимфоузлы	0,11 ± 0,02	0,07 ± 0,03	0,06 ± 0,01	0,09 ± 0,03

Таблица 3 – Относительная масса внутренних органов крыс-самок при однократном внутримышечном введении вакцины БелКовидВак (M ± m)

Исследуемый орган	Экспериментальная серия (группа), доза/крысу			
	контрольная, (1,5 мл 0,9%-й NaCl)	1 опытная, (0,5 мл)	2 опытная, (1,0 мл)	3 опытная, (1,5 мл)
Тимус	0,09 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,09 ± 0,01
Сердце	0,37 ± 0,02	0,36 ± 0,02	0,40 ± 0,02	0,38 ± 0,01
Легкие	0,45 ± 0,03	0,57 ± 0,09	0,53 ± 0,02	0,50 ± 0,03
Печень	3,06 ± 0,11	3,04 ± 0,05	3,29 ± 0,18	3,26 ± 0,10
Селезенка	0,27 ± 0,01	0,26 ± 0,01	0,28 ± 0,01	0,27 ± 0,02
Почки	0,65 ± 0,03	0,63 ± 0,02	0,70 ± 0,04	0,63 ± 0,02
Надпочечники	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,00
Головной мозг	0,57 ± 0,01	0,58 ± 0,02	0,52 ± 0,02	0,51 ± 0,03
Желудок	0,55 ± 0,03	0,54 ± 0,03	0,57 ± 0,05	0,50 ± 0,06
Подчелюстные лимфоузлы	0,15 ± 0,01	0,11 ± 0,02	0,08 ± 0,03	0,11 ± 0,02

Проведенная внутримышечная вакцинация однократным введением разрабатываемой отечественной вакцины БелКовидВак самцам и самкам крыс в нарастающих дозировках не вызывала негативных изменений со стороны цитогематологических показателей общего анализа крови, включая проявление дозозависимых эффектов, что указывало на отсутствие у образцов опытно-промышленной серии первой белорусской вакцины против коронавируса SARS-CoV-2 способности оказывать системное токсическое действие на костномозговое кроветворение даже при использовании дозировок,кратно превышающих допустимые для клинического применения. Отмечаемые же некоторые сдвиги со стороны количественного состава ряда клеток (лейкоцитов, их популяционных форм – лимфоцитов и моноцитов), по всей видимости, являются следствием связанного с введением БелКовидВак развития ответной реакции со стороны иммунокомпетентных органов и тканей организма животных, что опосредованно указывает на наличие у препарата иммуногенных свойств (таблицы 4 и 5). Следует отметить, что изучаемые показатели общего анализа крови самцов и самок крыс находились в границах физиологической нормы для данного вида животных.

Таблица 4 – Показатели клеточного состава крови самцов крыс при однократном внутримышечном введении вакцины БелКовидВак ($M \pm m$)

Исследуемый показатель, единица измерения	Экспериментальная серия (группа), доза/крысу			
	контрольная, (1,5 мл 0,9%-й NaCl)	1 опытная, (0,5 мл)	2 опытная, (1,0 мл)	3 опытная, (1,5 мл)
Эритроциты, $10^{12}/л$	8,84 ± 0,20	8,97 ± 0,15	9,42 ± 0,14	9,22 ± 0,17
Гемоглобин, г/л	155,6 ± 4,14	156,8 ± 3,73	165,8 ± 2,06	159,4 ± 1,50
Гематокрит, %	48,34 ± 1,50	49,68 ± 1,03	51,80 ± 0,92	50,46 ± 0,62
MCV, фл	54,62 ± 0,57	55,40 ± 0,37	55,04 ± 0,78	54,74 ± 0,65
MCH, пг	17,58 ± 0,19	17,48 ± 0,22	17,62 ± 0,34	17,30 ± 0,22
Тромбоциты, $10^9/л$	641,4 ± 39,78	696,0 ± 23,42	659,8 ± 66,91	686,6 ± 18,19
MPV, фл	7,52 ± 0,09	7,78 ± 0,07	7,98 ± 0,15*	8,06 ± 0,12*
Лейкоциты, $10^9/л$	7,86 ± 0,40	9,63 ± 0,98	13,75 ± 2,36*	12,00 ± 1,08
Лимфоциты, %	77,30 ± 2,03	72,64 ± 1,02	67,44 ± 3,61*	68,02 ± 2,66*
Моноциты, %	1,24 ± 0,18	3,46 ± 1,09	5,16 ± 1,40	4,60 ± 1,52
Нейтрофилы, %	19,14 ± 1,86	21,32 ± 0,85	22,12 ± 2,35	24,08 ± 1,85
Эозинофилы, %	1,00 ± 0,03	0,86 ± 0,16	1,78 ± 0,43	1,18 ± 0,15
Базофилы, %	1,32 ± 0,11	1,72 ± 0,49	1,50 ± 0,51	2,12 ± 0,49
Ретикулоциты, %	3,52 ± 0,33	3,31 ± 0,28	3,06 ± 0,23	3,44 ± 0,33

* достоверность различий по сравнению со значениями данного показателя у контрольных животных по критерию Dunnett's при $p < 0,05$.

Таблица 5 – Показатели клеточного состава крови самок крыс при однократном внутримышечном введении вакцины БелКовидВак ($M \pm m$)

Исследуемый показатель	Экспериментальная серия (группа), доза/крысу			
	контрольная, (1,5 мл 0,9%-й NaCl)	1 опытная, (0,5 мл)	2 опытная, (1,0 мл)	3 опытная, (1,5 мл)
Эритроциты, $10^{12}/л$	7,52 ± 0,12	8,05 ± 0,23	8,08 ± 0,17	8,00 ± 0,13
Гемоглобин, г/л	140,2 ± 3,50	152,4 ± 3,87*	145,2 ± 0,97	148,6 ± 0,60
Гематокрит, %	43,08 ± 1,62	47,02 ± 1,55	44,74 ± 0,31	46,00 ± 0,36
MCV, фл	57,24 ± 1,28	58,40 ± 0,79	55,42 ± 0,89	57,54 ± 0,678
MCH, пг	18,62 ± 0,22	18,94 ± 0,09	17,98 ± 0,31	18,60 ± 0,30
Тромбоциты, $10^9/л$	545,2 ± 28,05	576,2 ± 34,19	588,4 ± 20,03	679,2 ± 30,36*
MPV, фл	7,62 ± 0,12	7,66 ± 0,16	7,80 ± 0,07	7,76 ± 0,12
Лейкоциты, $10^9/л$	5,27 ± 0,81	6,16 ± 0,74	5,48 ± 0,45	8,00 ± 0,34*
Лимфоциты, %	73,40 ± 1,28	78,62 ± 1,54	72,56 ± 2,69	72,38 ± 2,09
Моноциты, %	2,16 ± 1,07	1,06 ± 0,16	2,38 ± 0,96	2,64 ± 0,88
Нейтрофилы, %	20,10 ± 1,34	16,08 ± 1,43	20,66 ± 1,82	21,56 ± 2,01
Эозинофилы, %	1,78 ± 0,22	1,70 ± 0,26	2,22 ± 0,31	1,78 ± 0,21
Базофилы, %	2,56 ± 0,35	2,54 ± 0,41	2,28 ± 0,24	1,64 ± 0,30
Ретикулоциты, %	3,12 ± 0,17	3,13 ± 0,12	3,38 ± 0,16	2,92 ± 0,16

* достоверность различий по сравнению со значениями данного показателя у контрольных животных по критерию Dunnett's при $p < 0,05$.

Внутримышечное введение самцам и самкам крыс вакцины БелКовидВак в дозировке и режиме вакцинации, предполагаемых для практического применения у человека, также не проявляло иммунотоксических эффектов последствия на исследуемые показатели первичного (сосудисто-тромбоцитарного) гемостаза животных. Так, статистический анализ результатов, полученных при изучении плазменного гемостаза в ходе оценки острой токсичности вакцины БелКовидВак при однократном внутримышечном введении самцам и самкам крыс не выявил достоверных различий по показателям активированного частичного тромбопластинового времени (далее – АЧТВ), протромбинового времени (далее – ПВ) и тромбинового времени (далее – ТВ). Отмечено лишь некоторое, не влияющее на функциональное состояние свертывающей системы крови, достоверное повышение содержания фибриногена у крыс-самцов при воздействии на организм в дозе 1,0 мл – на 22,04 % ($p < 0,05$) и крыс-самок в дозе 1,5 мл – на 22,45 % ($p < 0,05$), относительно значений, зарегистрированных в соответствующих контрольных группах животных (таблица 6). При этом абсолютные значения содержания фибриногена в плазме крови животных всех экспериментальных серий находились в интервале: у самцов ($2,54 \pm 0,040$) г/л – ($3,10 \pm 0,158$) г/л, у самок ($1,96 \pm 0,154$) г/л – ($1,96 \pm 0,154$) г/л, т. е. в пределах физиологической нормы для крыс. По всем остальным показателям плазменного (вторичного) гемостаза различий между сравниваемыми сериями/группами не зарегистрировано.

Таблица 6 – Показатели плазменного гемостаза самцов и самок крыс при изучении острой токсичности вакцины БелКовидВак на крысах ($M \pm m$)

Исследуемый показатель, единицы измерения	Экспериментальная серия (группа), доза/крысу			
	контрольная, (1,5 мл 0,9%-й NaCl)	1 опытная, (0,5 мл)	2 опытная, (1,0 мл)	3 опытная, (1,5 мл)
Самцы				
АЧТВ, с	$26,28 \pm 0,717$	$26,50 \pm 0,742$	$25,02 \pm 1,058$	$27,58 \pm 1,953$
ПВ, с	$19,06 \pm 0,342$	$18,80 \pm 0,639$	$18,98 \pm 1,193$	$18,38 \pm 0,317$
ТВ, с	$21,34 \pm 0,325$	$22,66 \pm 1,130$	$22,20 \pm 0,635$	$24,68 \pm 2,254$
Фибриноген, г/л	$2,54 \pm 0,040$	$2,64 \pm 0,211$	$3,10 \pm 0,158^*$	$2,58 \pm 0,037$
Самки				
АЧТВ, с	$25,24 \pm 1,051$	$22,26 \pm 1,781$	$25,48 \pm 0,681$	$21,72 \pm 0,976$
ПВ, с	$16,90 \pm 0,367$	$16,30 \pm 0,459$	$16,00 \pm 0,167$	$16,70 \pm 0,363$
ТВ, с	$22,64 \pm 1,090$	$23,36 \pm 1,335$	$22,12 \pm 0,614$	$23,52 \pm 1,658$
Фибриноген, г/л	$1,96 \pm 0,154$	$2,20 \pm 0,071$	$2,22 \pm 0,124$	$2,40 \pm 0,100^*$
* достоверность различий по сравнению со значениями показателя у контрольных животных по критерию Dunnett's при $p < 0,05$.				

Заключение. Таким образом, проведенное исследование показало, что однократное внутримышечное введение крысам линии SPF Sprague-Dawley образцов опытно-промышленной серии отечественной вакцины против коронавируса SARS-CoV-2 инактивированной цельновирионной как в дозировке, рекомендуемой для вакцинации в клинической практике, так и 2–3-кратно ее превышающей, не только не оказывало спустя две недели поствакцинального периода гибели, но и сколь-либо существенных изменений со стороны общего состояния и поведения экспериментальных животных, их внешнего вида, поведенческих реакций и рефлекторной активности, а также не влияло на прирост массы тела животных, морфоструктуру и весовые коэффициенты основных органов жизнеобеспечения (головной мозг, тимус, подчелюстные лимфоузлы, легкие, желудок, печень, селезенка, почки и надпочечники) и основные цитогематологические, гемостазиологические показатели крови. Следовательно, у нового отечественного вакцинального препарата БелКовидВак отсутствует потенциальная возможность инициировать развитие токсико-фармакологических эффектов последствия в условиях практического использования.

Сведения о НИР. НИОК(Т)Р «Провести доклинические исследования инактивированной цельновирионной вакцины для медицинской профилактики COVID-19», регистрационный номер 20221840.

Литература

1. Надлежащая лабораторная практика : ТКП 125-2008 (02040). – Введ. 01.05.2008. – Минск : [б. и.], 2008. – 35 с.
2. WHO guidelines on nonclinical evaluation of vaccines // WHO expert committee on biological standardization: fifty-second report / World Health Org. – Geneva, 2005. – Ann. 1. – P. 31–63. – (WHO

technical report series ; 927). – URL : https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/43094/WHO_TRS_927_eng.pdf?sequence=1 (date of access: 02.10.2024).

3. Guidance for industry: considerations for developmental toxicity studies for preventive and therapeutic vaccines for infectious disease indications / FDA. – [S. l.], 2006. – URL : <https://www.fda.gov/media/73986/download> (date of access: 02.10.2024).

4. Development and licensure of vaccines to prevent COVID-19: guidance for industry / FDA. – [S. l.], 2020. – URL : <https://www.fda.gov/media/139638/download> (date of access: 02.10.2024).

5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические лекарственные препараты): ч. вторая / М-во здравоохранения и соц. развития Рос. Федерации, Науч. центр экспертизы средств мед. применения ; редкол.: А. Н. Миронов [и др.] ; ред. совет: Р. М. Хаитов [и др.]. – М. : Гриф и К, 2012. – 532 с.

6. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях, Страсбург, 18 марта 1986 г. : неофиц. пер. / Совет Европы. – URL: <https://rm.coe.int/168007a6a8> (дата обращения: 02.10.2024).

*Gapanovich V. N., Vasilyeva E. N., Andreev S. V., Berdina E. L.,
Eliseenko A. N., Melnik D. K., Bartosh M. A., Usova V. S.*

EVALUATION OF ACUTE GENERAL TOXIC ACTION OF BELARUSIAN VACCINE “BELCOVIDVAK” AGAINST SARS-COV-2 CORONAVIRUS. MESSAGE 3.

Republican Unitary Enterprise «Scientific and practical center LOTIOS», Minsk, Belarus

The study investigated the general toxic properties of the SARS-CoV-2 inactivated whole-virion coronavirus vaccine when administered once intramuscularly to Sprague-Dawley rats. It was found that the belarusian vaccine BelCovidVak doesn't cause negative changes in the general condition and behavior of experimental animals, their appearance, behavioral reactions and reflex activity, cytohematological and hemostasiological blood parameters, doesn't have a negative effect on the body weight of animals and the dynamics of its growth, also no systemic organotropic toxic and pharmacological effect on the main organs of life support of rats was observed.

Keywords: preclinical studies, Sprague-Dawley rats, BelCovidVac vaccine, acute general toxic action, intramuscular administration.

References

1. Technical Code TKP 125-2008 (02040). Good laboratory practice. Minsk; 2008. (in Russian)

2. WHO guidelines on nonclinical evaluation of vaccines. In: *WHO expert committee on biological standardization: fifty-second report*. Ann. 1. Geneva; 2005: 31—63. Available at: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/43094/WHO_TRS_927_eng.pdf?sequence=1 (accessed 2 October 2024).

3. Guidance for industry: considerations for developmental toxicity studies for preventive and therapeutic vaccines for infectious disease indications. S. l.; 2006. Available at: <https://www.fda.gov/media/73986/download> (accessed 2 October 2024).

4. Development and licensure of vaccines to prevent COVID-19: guidance for industry. S. l.; 2020. Available at: <https://www.fda.gov/media/139638/download> (accessed 2 October 2024).

5. Guidelines for conducting preclinical studies of medicinal products (immunobiological drugs). Moscow: Grif i K; 2012. (in Russian)

6. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes, Strasbourg, 18 March 1986. Available at: <https://rm.coe.int/168007a67b> (accessed 2 October 2024). (in Russian)

e-mail для переписки: lotios@yandex.by

Поступила 02.10.2024

Гапанович В. Н., Бердина Е. Л., Филонюк В. А.¹, Андреев С. В., Павлов К. И.¹

ВЛИЯНИЕ ПОВТОРНЫХ ВНУТРИМЫШЕЧНЫХ ВВЕДЕНИЙ В НАРАСТАЮЩИХ ДОЗАХ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ВАКЦИНЫ БЕЛКОВИДВАК НА ГУМОРАЛЬНЫЙ И КЛЕТОЧНЫЙ ИММУНИТЕТ КРЫС. СООБЩЕНИЕ 2

*Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр ЛОТИОС»,
г. Минск, Республика Беларусь*

*¹ Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь*

Аннотация. В ходе оценки влияния повторного (4-кратного) внутримышечного введения первой опытно-промышленной серии вакцины БелКовидВак против коронавируса SARS-CoV-2 самцам и самкам крыс линии Sprague-Dawley в дозах 0,1 мл/животное, 0,2 мл/животное, 0,3 мл/животное и 0,8 мл/животное на показатели иммунной системы установлена достоверность различий для концентраций IgM, IgG, IgE в крови крыс-самцов. Не выявлено существенных изменений количества В-лимфоцитов у животных как контрольной, так и всех опытных серий. Со стороны показателей клеточного иммунитета не было отмечено достоверных различий между животными опытных (самцы, самки) и контрольной (самцы, самки) серий в количестве Т-лимфоцитов-хелперов, Т-лимфоцитов-киллеров, а также натуральных киллерных клеток. Не зарегистрировано значимых сдвигов концентраций интерлейкина 6 и интерлейкина 10 у животных всех экспериментальных серий, что в целом было также характерно для концентрации фактора некроза опухолей альфа и интерферона гамма.

Ключевые слова: вакцина БелКовидВак, крысы Sprague-Dawley, клеточный и гуморальный иммунитет, цитокины.

Введение. Основные побочные эффекты иммунобиологических лекарственных средств определяются их воздействием на иммунную систему и выражаются в иммунотоксических проявлениях, аутоиммунных реакциях и реакциях гиперчувствительности. Поэтому во время доклинического исследования при изучении общетоксического действия должны оцениваться клинико-лабораторные признаки и морфогистологические параметры, характеризующие иммунную систему [1, 2]. Совокупность использованных методов должна обеспечить необходимый объем данных о состоянии гуморального и клеточного иммунитета, включая исследования количества и функциональной активности основных субпопуляций иммунокомпетентных клеток [1]. К наиболее информативным показателям гуморального иммунитета следует отнести исследование уровней основных классов иммуноглобулинов (далее – Ig) в сыворотке или плазме крови (общих IgM, IgG и IgE), а также количество В-лимфоцитов – в периферической крови. Основными показателями, отражающими состояние клеточного иммунитета, являются количества субпопуляций Т-лимфоцитов хелперов и киллеров (CD3+CD4+, CD3+CD8+ клеток), а также натуральных (естественных) киллерных клеток, цитокинов (противовоспалительных – интерлейкина 4 (далее – IL-4), интерлейкина 6 (далее – IL-6), интерлейкина 10 (далее – IL-10), провоспалительных – фактора некроза опухолей альфа (далее – TNF- α), интерферона γ (далее – IFN- γ), интерлейкина 1-бета) в плазме крови. Характерным признаком тяжелой иммунопатологии является системное изменение концентрации цитокинов, регулирующих как гуморальное, так и клеточное звено иммунного ответа. Гистологическая характеристика основных органов жизнеобеспечения, включающая изучение морфологии тимуса, селезенки, лимфоузлов, органа зрения, а также места введения разрабатываемого иммунобиологического препарата, может предоставить дополнительную информацию о возможном иммунопатологическом эффекте исследуемого лекарственного средства [1, 3, 4], тогда как совокупность полученных данных позволит прогнозировать иммунологическую безопасность, общий и иммунотоксический потенциал вакцины [4]. Необходимо учитывать, что между перечнем показателей, исследуемых во время доклинических и клинических исследований, должна быть преемственность [3, 5]. При этом изучаемые во время доклинического исследования показатели должны максимально широко характеризовать состояние иммунной системы.

Целью исследования являлось изучение влияния повторных внутримышечных введений образцов опытно-промышленной серии отечественной вакцины БелКовидВак в нарастающих дозировках на клеточный и гуморальный иммунитет крыс.

Материалы и методы. Исследования выполнялись на половозрелых крысах Sprague-Dawley (статус SPF; источник – НПП «Питомник лабораторных животных» ФИБХ РАН, г. Пущино; Российская Федерация), в соответствии с требованиями «Европейской конвенции по защите позвоночных, используемых для экспериментальных и иных научных целей» [6].

Было сформировано 4 опытные серии крыс (по 10 самцов и 10 самок в каждой), которым повторно 4-кратно – на 1, 15, 29 и 43 сутки эксперимента внутримышечно вводили вакцину БелКовидВак в дозах соответственно по 0,1 мл/животное, 0,2 мл/животное, 0,3 мл/животное и 0,8 мл/животное. Животным контрольной серии (10 самок и 10 самцов) аналогично по срокам вводили раствор натрия хлорид для инъекций изотонический (0,9% NaCl) по 0,8 мл/животное. Внутримышечное введение препаратов (БелКовидВак и 0,9% NaCl) осуществлялось в среднюю треть латеральной поверхности бедра крыс. Исследование проведено отдельно для самок и самцов. Продолжительность наблюдений составляла 56 суток.

Для оценки влияния вакцины БелКовидВак на гуморальный иммунитет выполняли определение методом ИФА концентрации общих фракций иммуноглобулинов: IgM, IgG, IgE в плазме крови, а также количества В-лимфоцитов (CD3-CD45RA+) в периферической крови.

Состояние клеточного иммунитета оценивалось на основе учета количества Т-лимфоцитов хелперов (CD3+CD4+), Т-лимфоцитов киллеров (CD3+CD8+), натуральных (естественных) киллерных клеток (CD161+) в периферической крови, а также определения содержания наиболее значимых цитокинов: противовоспалительных – IL-6 и IL-10; провоспалительных – TNF- α и IFN- γ в плазме крови.

Исследование концентрации общих фракций иммуноглобулинов (IgM, IgG и IgE) и концентрации цитокинов в плазме крови выполнялось методом иммуноферментного анализа с использованием наборов для крыс производства Wuhan Fine Biotech Co., Ltd. (КНР) в соответствии с инструкциями изготовителя. Для учета результатов использовали фотометр Thermo Scientific Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific, Финляндия).

Исследование количества В-лимфоцитов (CD3-CD45RA+), Т-лимфоцитов хелперов (CD3+CD4+), Т-лимфоцитов киллеров (CD3+CD8+) и натуральных киллерных клеток (CD161+) в периферической крови выполняли методом проточной цитометрии на проточном цитометре Perlong Medical Equipment FC2060 (КНР).

Статистический анализ проводили с использованием пакета программ GraphPad Prism 7 (лицензия / серийный № GP7-1095667-RIOM-D4F5F). Различия результатов в опыте и контроле оценивали при уровне значимости $p < 0,05$ и отмечали значком «*». Для обработки полученных данных применяли описательную статистику, рассчитывали среднее значение (M) и стандартную ошибку среднего ($\pm m$). Для определения соответствия выборки нормальному распределению использовали критерий Шапиро – Уилка, а для определения достоверности различий с контрольной группой использовали критерий Даннета.

Результаты и их обсуждение. При исследовании гуморального иммунитета выявили различия в концентрации IgM у самцов контрольной серии и 1 опытной серии (таблица 1).

Так, 4-кратное внутримышечное введение вакцины БелКовидВак в дозе 0,1 мл на животное сопровождалось повышением уровня IgM в плазме крови крыс-самцов 1 опытной серии на 16,6 % ($p < 0,05$) относительно значений у животных контрольной серии. При исследовании концентрации IgG и IgE в плазме крови у крыс-самцов 4 опытной (доза 0,8 мл/животное) зарегистрировано достоверное ($p < 0,05$) увеличение их уровня соответственно на 6,9 % и 69,6 % относительно значений у животных контрольной серии. Проведенные исследования не выявили существенных различий в количестве В-лимфоцитов, экспрессирующих молекулы CD45RA и не экспрессирующих поверхностный маркер CD3, у крыс контрольной и опытных серий. Выраженных различий в количестве CD3-CD45RA+ В-лимфоцитов между самцами и самками крыс отмечено не было (таблица 1).

Со стороны показателей клеточного иммунитета не было отмечено (таблица 2) каких-либо существенных различий между животными 1–4 опытных (самцы, самки) и контрольной (самцы, самки) серий в количестве Т-лимфоцитов-хелперов, экспрессирующих молекулы CD3 и CD4, Т-лимфоцитов-киллеров, экспрессирующих молекулы CD3 и CD8, а также натуральных киллерных клеток, экспрессирующих молекулу (CD161 (NKR-P1)).

Таблица 1 – Показатели гуморального иммунитета у самцов и самок крыс при многократном внутримышечном введении вакцины БелКовидВак ($M \pm m$)

Исследуемый показатель, единицы измерения	Группы сравнения, доза (мл/крысу)				
	контрольная, (NaCl, 0,8 мл)	1 опытная, (0,1 мл)	2 опытная, (0,2 мл)	3 опытная, (0,3 мл)	4 опытная, (0,8 мл)
Самцы					
Концентрация IgM в плазме крови, мг/мл	54,1 ± 1,2	63,1 ± 0,8*	56,9 ± 2,6	59,6 ± 1,0	53,7 ± 2,0
Концентрация IgG в плазме крови, мг/мл	20,4 ± 0,2	20,7 ± 0,3	20,2 ± 0,5	21,2 ± 0,4	21,8 ± 0,3*
Концентрация IgE в плазме крови, нг/мл	11,5 ± 1,2	13,4 ± 1,3	12,3 ± 0,3	12,9 ± 0,8	19,5 ± 2,4*
Количество CD3-CD45RA+ В-лимфоцитов, %	18,7 ± 0,3	18,0 ± 0,3	18,3 ± 0,7	18,6 ± 0,5	18,4 ± 0,4
Самки					
Концентрация IgM в плазме крови, мг/мл	44,9 ± 1,9	50,6 ± 2,9	48,4 ± 2,2	52,3 ± 1,9	52,1 ± 2,5
Концентрация IgG в плазме крови, мг/мл	20,6 ± 0,3	20,1 ± 0,3	20,6 ± 0,2	19,7 ± 1,0	20,9 ± 0,3
Концентрация IgE в плазме крови, нг/мл	13,9 ± 1,7	14,0 ± 1,2	15,5 ± 1,7	16,7 ± 1,5	16,9 ± 0,4
Количество CD3-CD45RA+ В-лимфоцитов, %	17,5 ± 0,5	17,9 ± 0,7	18,1 ± 0,8	18,0 ± 0,7	18,1 ± 0,6
* достоверность различий по сравнению со значениями данного показателя у контрольных животных по критерию Dunnett's при $p < 0,05$.					

Таблица 2 – Показатели клеточного иммунитета у самцов и самок крыс при многократном внутримышечном введении вакцины БелКовидВак ($M \pm m$)

Исследуемый показатель, единицы измерения	Группы сравнения, доза (мл/крысу)				
	контрольная, (NaCl, 0,8 мл)	1 опытная, (0,1 мл)	2 опытная, (0,2 мл)	3 опытная, (0,3 мл)	4 опытная, (0,8 мл)
Самцы					
Количество CD3+CD4+ Т-лимфоцитов хелперов, %	20,6 ± 0,6	20,3 ± 0,5	20,1 ± 0,5	20,4 ± 1,0	20,5 ± 0,5
Количество CD3+CD8+ Т-лимфоцитов киллеров, %	9,2 ± 0,3	9,4 ± 0,3	9,5 ± 0,4	9,5 ± 0,4	9,3 ± 0,5
Количество CD161+ (NKR-P1) натуральных киллерных клеток, %	3,7 ± 0,2	3,6 ± 0,3	3,5 ± 0,2	3,7 ± 0,2	3,6 ± 0,2
Самки					
Количество CD3+CD4+ Т-лимфоцитов хелперов, %	20,8 ± 0,6	21,1 ± 0,7	20,3 ± 0,8	20,9 ± 0,4	20,6 ± 0,4
Количество CD3+CD8+ Т-лимфоцитов киллеров, %	9,3 ± 0,5	9,3 ± 0,4	9,5 ± 0,4	9,6 ± 0,4	9,5 ± 0,2
Количество CD161+ (NKR-P1) натуральных киллерных клеток, %	3,0 ± 0,2	2,9 ± 0,1	3,0 ± 0,1	3,2 ± 0,2	3,1 ± 0,3

Для оценки влияния многократного (4-кратного) поступления в организм вакцины БелКовидВак в четырех уровнях доз на цитокиновое звено иммунитета было проведено исследование концентраций IL-6, IL-10, TNF- α , IFN- γ в плазме крови самцов и самок крыс при сравнении результатов с контрольной серией животных (таблица 3).

Таблица 3 – Средние значения концентрации цитокинов в плазме крови самцов и самок крыс в хроническом эксперименте ($M \pm m$, $n = 5$)

Исследуемый показатель, единицы измерения	Группы сравнения, доза (мл/крысу)				
	контрольная, (NaCl, 0,8 мл)	1 опытная, (0,1 мл)	2 опытная, (0,2 мл)	3 опытная, (0,3 мл)	4 опытная, (0,8 мл)
Самцы					
Концентрация IL-6 в плазме крови крыс, пг/мл	142,8 ± 22,6	148,4 ± 20,8	159,6 ± 41,1	137,4 ± 8,9	126,0 ± 14,4
Концентрация IL-10 в плазме крови крыс, пг/мл	54,3 ± 10,2	52,6 ± 3,1	57,0 ± 5,3	54,5 ± 3,6	78,8 ± 11,9
Концентрация TNF-α в плазме крови крыс, пг/мл	73,5 ± 20,2	45,4 ± 14,9	33,3 ± 10,4	26,4 ± 5,9	61,3 ± 13,0
Концентрация IFN-γ в плазме крови крыс, пг/мл	5,2 ± 3,1	1,2 ± 1,2	0,0 ± 0,0	1,3 ± 1,2	11,1 ± 7,2
Самки					
Концентрация IL-6 в плазме крови крыс, пг/мл	103,3 ± 16,3	87,4 ± 5,2	154,6 ± 40,8	158,2 ± 20,2	147,7 ± 18,3
Концентрация IL-10 в плазме крови крыс, пг/мл	54,4 ± 7,3	46,1 ± 3,3	49,4 ± 7,2	61,2 ± 1,4	48,5 ± 4,8
Концентрация TNF-α в плазме крови крыс, пг/мл	153,9 ± 23,0	77,8 ± 22,4	90,1 ± 26,6	127,3 ± 23,0	77,4 ± 18,5
Концентрация IFN-γ в плазме крови крыс, пг/мл	5,2 ± 3,3	0,9 ± 0,6	9,0 ± 6,0	6,6 ± 2,0	18,4 ± 10,6

Так, в ходе исследования у животных контрольной и опытных серий не было выявлено существенных различий в концентрации IL-6. Среднее значение данного показателя у животных контрольной серии составило ($142,8 \pm 22,6$) пг/мл для самцов и ($103,3 \pm 16,3$) пг/мл – самок, соответственно. У крыс 4 опытной серии, которым вводили максимальную дозу вакцины БелКовидВак, среднее значение данного показателя составило ($126,0 \pm 14,4$) пг/мл и ($147,7 \pm 18,3$) пг/мл для самцов и самок, соответственно. Выраженных различий в концентрациях IL-6 между самцами и самками крыс зафиксировано не было.

Аналогичная картина изменений была отмечена и со стороны другого противовоспалительного цитокина – IL-10, существенных различий концентрации которого в плазме крови крыс-самцов и крыс-самок спустя 14 суток восстановительного периода после 4-ой инъекции исследуемого препарата, относительного таковой в плазме крови животных контрольной серии, не обнаружено. Так, среднее значение данного показателя в контрольной серии составило ($54,3 \pm 10,2$) пг/мл и ($54,4 \pm 7,3$) пг/мл для самцов и самок, соответственно. В опытной серии животных, которым внутримышечно вводили максимальную дозу вакцины БелКовидВак, среднее значение указанного показателя составило ($78,8 \pm 11,9$) пг/мл и ($48,5 \pm 4,8$) пг/мл для самцов и самок, соответственно, без выраженных гендерных различий.

Сравнительный анализ регистрируемых концентраций в плазме крови провоспалительных цитокинов – TNF-α и IFN-γ также не позволил установить их статистически значимые закономерности по сравнению с животными, получавшими внутримышечные инъекции 0,9% NaCl, причем ни по гендерному признаку, ни по межсерийной дозовой зависимости.

Заключение. Отечественная вакцина БелКовидВак при многократном внутримышечном введении крысам линии Sprague-Dawley во всех испытанных 4-х нарастающих дозах не проявляла иммунотоксических свойств на показатели гуморального и клеточного иммунитета организма, а также на концентрацию цитокинов. В свою очередь выявленные достоверные изменения некоторых показателей гуморального иммунитета, по всей вероятности, свидетельствуют о высокой иммуногенности образцов первой опытно-промышленной серии разрабатываемого препарата, поскольку наблюдаемые тренды в возрастании концентрации иммуноглобулинов классов M и G являются следствием развития иммунного ответа на многократные внутримышечные введения максимальной из испытанных доз вакцины.

Сведения о НИР. НИОК(Т)Р «Провести доклинические исследования инактивированной цельновиральной вакцины для медицинской профилактики COVID-19», регистрационный номер 20221840.

Литература

1. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические лекарственные препараты) / М-во здравоохранения и соц. развития Рос. Федерации, Науч. центр экспертизы средств мед. применения ; редкол.: А. Н. Миронов [и др.] ; ред. совет: Р. М. Хаитов [и др.]. – М. : Гриф и К, 2012. – Ч. 2. – 532 с.

2. Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза : решение Совета Евраз. экон. комис. от 3 нояб. 2016 г. № 89 // *ilex* : информ. правовая система (дата обращения: 02.10.2024).

3. СП 3.3.2.561-96. Медицинские иммунобиологические препараты. Государственные испытания и регистрация новых медицинских иммунобиологических препаратов : утв. постановлением Госкомсанэпиднадзора России от 31 окт. 1996 г. № 33 // *КонсультантПлюс. Россия* : справ. правовая система (дата обращения: 02.10.2024).

4. Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов : решение Совета Евраз. экон. комис. от 26 нояб. 2019 г. № 202 // *ilex* : информ. правовая система (дата обращения: 02.10.2024).

5. Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase 1/2 studies from Russia / D. Y. Logunov, I. V. Dolzhikova, O. V. Zubkova [et al.] // *Lancet*. – 2020. – Vol. 396, № 10255. – P. 887–897.

6. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях, Страсбург, 18 марта 1986 г. : неофиц. пер. / Совет Европы. – URL: <https://rm.coe.int/168007a6a8> (дата обращения: 02.10.2024).

Gapanovich V. N., Berdina E. L., Filonyuk V. A.¹, Andreyev S. V., Pavlov K. I.¹

EFFECT OF REPEATED INTRAMUSCULAR INJECTIONS IN INCREASING DOSES OF DOMESTIC BELKOVIDVAK VACCINE ON HUMORAL AND CELLULAR IMMUNITY OF RATS. MESSAGE 2

Republican Unitary Enterprise «Scientific and Practical Center LOTIOS», Minsk, Belarus

¹ Educational Institution «Belarusian State Medical University», Minsk, Belarus

During the assessment of the effect of repeated (4-fold) intramuscular administration of the first pilot series of the SARS-CoV-2 coronavirus vaccine BelCovidVac to male and female Sprague-Dawley rats in doses of 0.1 ml/animal, 0.2 ml/animal, 0.3 ml/animal and 0.8 ml/animal on immune system parameters, it was established the significance of differences for IgM, IgG, and IgE concentrations in the blood of male rats. There were no significant changes in the number of B-lymphocytes in animals of both the control and all experimental series. From the side of cellular immunity indicators, there were no significant differences between the animals of the experimental (males, females) and control (males, females) series in the number of helper T-lymphocytes, killer T-lymphocytes, as well as natural killer cells. There were no pronounced shifts in IL-6 and IL-10 concentrations in animals of all experimental series, which was also typical for TNF- α and interferon γ concentrations in general.

Keywords: vaccine BelCovidVac, rats Sprague-Dawley, cellular and humoral immunity, cytokines.

References

1. Guidelines for conducting preclinical studies of medicinal products (immunobiological drugs). Moscow: Grif i K; 2012; (in Russian)

2. On approval of the Rules for conducting research on biological medicinal products of the Eurasian Economic Union: : reshenie Soveta Evraz. ekon. komis. ot 3 noyab. 2016 g. № 89. In: *ilex*: inform. pravovaya sistema (accessed 2 October 2024). (in Russian)

3. SP 3.3.2.561-96. Medical immunobiological preparations. State testing and registration of new medical immunobiological drugs. In: *ConsultantPlus. Russia*: sprav. pravovaya sistema (accessed 2 October 2024). (in Russian)

4. On approval of the Guidelines for preclinical safety studies for the purpose of conducting clinical trials and registration of medicinal products: reshenie Soveta Evraz. ekon. komis. ot 26 noyab. 2019 g. № 202. In: *ilex*: inform. pravovaya sistema (accessed 2 October 2024). (in Russian)

5. Logunov D. Y., Dolzhikova I. V., Zubkova O. V. et al. Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase 1/2 studies from Russia. *Lancet*. 2020; 396(10255): 887–97.

6. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes, Strasbourg, 18 March 1986. Available at: <https://rm.coe.int/168007a67b> (accessed 2 October 2024). (in Russian)

e-mail для переписки: lotios@yandex.by

Поступила 02.10.2024

Дроздова Е. В., Дудчик Н. В., Емельянова О. А.

МЕТОД ОЦЕНКИ ИНТЕГРАЛЬНОЙ ТОКСИЧНОСТИ ВОДНЫХ ВЫТЯЖЕК ИЗ ПОЧВ НАСЕЛЕННЫХ МЕСТ ПО ПАРАМЕТРАМ РАЗВИТИЯ КОНСОРЦИУМА МИКРООРГАНИЗМОВ *PSEUDOMONAS SPP.*

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Обоснованы методические подходы оценки интегральной токсичности водных вытяжек из почв населенных мест по кинетическим параметрам развития консорциума микроорганизмов *Pseudomonas spp.* Изоляты *Pseudomonas aeruginosa* 31-02102015 и *Pseudomonas putabilis* 34-02102015 получены в ходе гигиенического мониторинга водных объектов в зонах рекреации Минского района в весенне-летний период 2015 г. Разработан количественный метод определения интегральной токсичности с импедиметрическим принципом детекции. Использование импедиметрического метода позволяет повысить эффективность оценки и обеспечивает получение достоверных и сопоставимых результатов при существенном сокращении времени проведения анализа. Результаты исследований подтвердили высокую эффективность выбранного формата импедиметрического метода оценки.

Ключевые слова: токсичность, маркер токсического действия, параметр жизнедеятельности тест-организма, тест-культура, цитотоксическое действие.

Введение. Кинетика ингибирования химическими факторами развития и роста микробных популяций сложна и недостаточно разработана [1, 2]. Ранее нами показано, что импедиметрическое выявление особенностей развития популяции микроорганизмов в условиях периодической культуры, дополненное метаболическими и культурально-морфологическими маркерами, является перспективным для количественного определения зависимости «доза – эффект» в условиях токсического воздействия, при этом маркером токсического действия является параметр жизнедеятельности тест-организма, на основании изменения которого делается вывод о токсичности образца [1–6].

В настоящее время в практике работы микробиологических лабораторий находят широкое применение импедансные технологии, принцип работы которых основан на детекции изменений электрохимических показателей (импеданса) среды культивирования в процессе развития популяции. Применение принципов импедансной технологии с использованием анализаторов представляется перспективным при разработке экспресс-методов оценки действия факторов среды различной природы с использованием тест-моделей. Использование импедансной технологии дает возможность изучить параметры динамических моделей, в т. ч. детекцию степени ингибирования или стимулирования роста популяции тест-культуры исследуемым химическим контаминантом в режиме реального времени. Методологические основы разработки методик оценки интегральной токсичности основаны на определении продолжительности фаз кривой роста популяции тест-культур в периодической системе. В связи с вышеизложенным, разработка импедансного экспресс-метода определения воздействия факторов среды на тест-культурах микроорганизмов является актуальным как в научном плане, так и для практической лабораторной работы. Преимуществами импедансных методов оценки являются удобство выполнения, экономичность, высокая точность, чувствительность и воспроизводимость, значительное сокращение времени анализа, экономия питательных сред [2].

В настоящее время общепризнанным является представление о почве как структурно-экологической нише, которая представляет единую систему с населяющими ее популяциями организмов различного систематического положения. Этот принцип положен в основу биоиндикации почв. Микробиологическая и биохимическая характеристика почв – наиболее сложные разделы почвенной биоиндикации [1].

Почва характеризуется не только составом и численностью разных групп биоты, но и активностью биохимических процессов, обусловленных наличием определенного пула ферментов. При этом активность ферментов может служить показателем потенциальной биологической активности почвы. В связи с тем что почва является своеобразной «ловушкой» для тяжелых металлов, попадающих из воздуха и отходов, задержка металлов растениями и ассоциированные токсические воздействия играют

значительную роль. Ингибирование роста, индукция ферментов, продукция стрессовых белков весьма важны в качестве «конечных точек» для определения токсических воздействий [1, 3].

Цель работы – обосновать методические подходы и разработать инструментальный импедиметрический метод количественной оценки интегральной токсичности водных вытяжек почв по кинетическим параметрам развития консорциума микроорганизмов *Pseudomonas spp.*

Материалы и методы. В работе использовали следующее оборудование и материалы: анализатор потенциометрический (рН-метр), микробиологический анализатор с электрохимическим (импедансным) принципом детекции, весы лабораторные 2-го класса точности, весы лабораторные аналитические, стандарт мутности на 5 ед., дозаторы автоматические.

В экспериментах для оптимизации условий культивирования подбирали и использовали питательные среды и материалы: мясопептонный агар; мясопептонный бульон; физиологический раствор, агар микробиологический. Для химической контаминации водных вытяжек использовали свинец азотнокислый (химически чистый). Питательные среды готовили и стерилизовали автоклавированием согласно рекомендациям производителя. Среда для культивирования штаммов *Pseudomonas spp.* (на 1000 мл воды): глюкоза – 3,2 г, дрожжевой экстракт – 1,5 г; пептон – 0,5 г; аммоний фосфорнокислый двузамещенный – 2,3 г; аммоний сернокислый – 1,2 г; калий хлористый – 1,7 г; рН 7,2–7,4. Вода дистиллированная – до 1000 мл, рН среды 6,8. Стерилизация автоклавированием 121 °С в течение 30 мин.

В качестве тест-культур использовали штамм *Pseudomonas aeruginosa* 31-02102015 и штамм *Pseudomonas mutabilis* 34-02102015 из рабочей коллекции научно-исследовательского института гигиены, токсикологии, эпидемиологии, вирусологии и микробиологии государственного учреждения «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья».

Результаты и их обсуждение. С целью количественной оценки интегральной токсичности водных сред разработана методика с использованием в качестве тест-объекта консорциума водных микроорганизмов *Pseudomonas aeruginosa* 31-02102015 и *Pseudomonas mutabilis* 34-02102015.

Изоляты получены в ходе гигиенического мониторинга водных объектов в зонах рекреации Минского района в весенне-летний период 2015 г. При тестировании используются кинетические маркеры консорциума микроорганизмов *Pseudomonas spp.* Ограничением при проведении тестирования природных объектов на микроорганизмах является высокая начальная контаминация объекта. При тестировании химических веществ и их смесей ограничением является их бактериостатическое действие. В качестве маркеров обоснован показатель величины лаг-периода (длительность начальной фазы роста в условиях периодического культивирования чувствительных микроорганизмов). Выбор среды культивирования являлся критическим для успешной разработки импедансного метода [2]. Основным требованием к среде культивирования является качественная кривая роста, имеющая стабильную базовую линию, выраженную фазу быстрого роста культуры и высокое значение изменений электрохимических показателей среды.

Тестирование проводили при температуре от +18 до +25 °С и относительной влажности воздуха в лаборатории (80 ± 5) %. Атмосферное давление 84–106 кПа (630–800 мм рт. ст.).

Для культивирования *Pseudomonas aeruginosa* 31-02102015 и *Pseudomonas mutabilis* 34-02102015 использовали среду указанного состава. Для приготовления рабочих культур штаммы отсеивали на агаризованную питательную среду и инкубировали в термостате при температуре 28–30 °С в течение 48–72 ч. Готовили суспензию тест-штаммов в физрастворе и доводили содержание клеток до 10⁸ КОЕ/мл, используя стандарт мутности на 5 ед.

При разработке импедиметрических методов эмпирически обосновывали схему проведения тестирования, включающую основные этапы: подбор чувствительных тест-объектов и подготовка рабочей культуры, оптимизация параметров состава среды культивирования, в т. ч. рН среды, времени и условий культивирования, качественного и количественного состава вносимого инокулята, параметров детектирования роста тест-культур с оценкой развития популяции тест-штамма по показателю DT с использованием программного обеспечения анализатора по интегральному изменению электрохимических показателей среды культивирования при развитии популяции тест-штаммов микроорганизмов. Манипуляции проводили с соблюдением правил асептики.

С учетом этого нами выполнена модификация ростового теста с оптической детекцией с использованием инструментального высокопрецизионного импедиметрического способа детекции. Для оценки токсических воздействий целесообразно определение продолжительности лаг-фазы кривой роста тест-штамма микроорганизма. Оценка степени токсического воздействия основывалась на сравнении

параметра времени детекции IDT в контроле (IDT_k) и опыте (IDT_o), полученных с помощью программно-обеспечения прибора.

Подготовленные образцы стерильной пипеткой вносили в приготовленные культуральные среды. Тщательно перемешивали внесенные вещества по всему объему среды. В контрольные среды вместо образца вносили равный объем растворителя. Приготовленные среды разливали в измерительные ячейки анализатора по 10–15 мл, инокулировали 0,1–0,5 мл рабочей суспензии тест-штамма и инкубировали в термоинкубаторе при 28–30 °С в течение 4–18 час. Исследования проводили не менее чем в трех повторностях для каждой концентрации.

Величину лаг-периода (длительность начальной фазы роста) определяли с использованием показателя DT микробиологического анализатора.

Чувствительность к интегральному токсическому воздействию для тест-культуры рассчитывали по формуле (1):

$$ИТ = 100 (IDT_o - IDT_k) / IDT_k \quad (1)$$

где ИТ – показатель интегральной токсичности;

IDT_o – значение времени детекции в опыте;

IDT_k – значение времени детекции в контроле.

Для оценки интегральной токсичности водных сред использовали следующую шкалу. Если $ИТ < 1$ – не выявлен ингибирующий эффект на тест-штамм микроорганизма. При $ИТ 1,1–1,5$ считали эффект слабовыраженным, при $ИТ 1,6–2,5$ считали токсический эффект умеренно выраженным, при $ИТ \geq 2,6$ считали токсический эффект сильным.

Исследование образцов водных вытяжек из почвы населенных мест, экспериментально контаминированных солями свинца, проводили методом оценки интегральной токсичности по кинетическим параметрам развития консорциума *Pseudomonas spp.* Предварительный химический анализ почв подтвердил, что содержание тяжелых металлов, в т.ч. свинца, не превышало гигиенических нормативов.

Объектами исследования были:

образец № 1 (контроль) вытяжка из почвы;

образец № 2 вытяжка из почвы, контаминированная 1 ПДК свинца;

образец № 3 вытяжка из почвы, контаминированная 10 ПДК свинца;

образец № 4 вытяжка из почвы, контаминированная 50 ПДК свинца.

В таблице приведены результаты исследований токсичности водных сред по кинетическим параметрам развития консорциума *Pseudomonas spp.*

Таблица – Результаты анализа токсичности водных сред по кинетическим параметрам развития консорциума *Pseudomonas spp.*

Образец	Маркеры, длительность лаг-фазы, час	Показатели интегральной токсичности
№ 1	4,9 ± 0,30	–
№ 2	6,5 ± 0,70*	0,33
№ 3	75,1 ± 2,10*	14,33
№ 4	150 ± 5,20*	29,61

* статистически значимое различие средних значений в опыте и контроле ($p < 0,05$).

Показатели ИТ образцов водных вытяжек из почвы, контаминированные 1 ПДК свинца, свидетельствуют об отсутствии токсического эффекта. Образцы № 3 и № 4, контаминированные 10 ПДК свинца и 50 ПДК свинца для почвы, соответственно, продемонстрировали сильный токсический эффект.

Таким образом, с использованием метода исследований токсичности водных вытяжек из почвы по кинетическим параметрам развития консорциума *Pseudomonas spp.* получены данные о токсичности образцов, контаминированных солями свинца в диапазоне концентраций 1–50 ПДК для почвы.

Заключение. Проведенная апробация метода определения интегральной токсичности с импедиметрическим принципом детекции для образцов водных вытяжек почв населенных мест подтвердила его применимость для количественной оценки интегральной токсичности. Результаты исследования интегральной токсичности объектов среды обитания человека необходимо учитывать

при определении уровня их возможного прямого или косвенного отрицательного влияния на здоровье и прогнозе степени их опасности для населения.

Сведения о НИР. НИР «Изучить токсические эффекты химических контаминантов в условиях экспериментального моделирования *in silico, in vitro, in vivo* для гигиенической оценки вредного действия факторов среды обитания на человека» подпрограммы 4.2 «Фундаментальные аспекты медицинской науки» ГПНИ 4 «Трансляционная медицина», регистрационный номер 20220279.

Литература

1. Дудчик, Н. В. Изучение свойств консорциума почвенных микроорганизмов как тест-объектов для оценки интегральной токсичности / Н. В. Дудчик // Гигиена и санитария. – 2012. – № 5. – С. 82–84.

2. Альтернативное тестирование токсичности: применение методов импедансной технологии в токсиколого-гигиенической практике / Н. В. Дудчик, Л. А. Мельникова, С. А. Янецкая, В. В. Трейлиб // Вестн. Рос. воен.-мед. акад. 2008. – № 3, прил. 2. – С. 148–149.

3. Synthesis of 2'-deoxythymidine by an enzymatic transdeoxyrinosylation / A. J. Zinchenko, V. N. Barai, S. B. Bokut [et al.] // Biotechnology Letters. – 1990. – Vol. 12, № 5. – P. 341–346.

4. Филонюк, В. А. Методология гигиенического регламентирования микробных препаратов и разработки методик выполнения измерений содержания микроорганизмов в воздухе рабочей зоны / В. А. Филонюк, В. В. Шевляков, Н. В. Дудчик. – Минск : БелНИИТ «Транстехника», 2018. – 264 с.

5. The EU chemicals strategy for sustainability: an opportunity to develop new approaches for hazard and risk assessment / S. Scholz, W. Brack, B.I. Escher [et al.] // Archives of Toxicology. – 2022. – Vol. 96, № 8. – P. 2381–2386.

6. Изучение мутагенной активности гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в тестах *in vitro* / Е. К. Власенко, А. М. Войтович, В. А. Грынчак [и др.] // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь; Науч.-практ. центр гигиены; редкол.: С. И. Сычик (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2015. – Т. 2, вып. 25. – С. 79–82.

Drozdova E. V., Dudchik N. V., Emeliyanova O. A.

ASSESSMENT OF THE INTEGRAL TOXICITY OF WATER EXTRACTS FROM SOIL IN PLACED AREAS ACCORDING TO THE DEVELOPMENT PARAMETERS OF THE CONSORTIUM OF MICROORGANISMS PSEUDOMONAS SPP.

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

Methodological approaches are substantiated for assessing the integral toxicity of aquatic environments based on the kinetic parameters of the development of a consortium of microorganisms *Pseudomonas spp.* Isolates *Pseudomonas aeruginosa* 31-02102015 and *Pseudomonas mirabilis* 34-02102015 obtained during hygienic monitoring of water bodies in recreation areas of the Minsk region in the spring-summer period of 2015. A quantitative method for determining integral toxicity with an impedimetric detection principle has been developed. The use of the impedimetric method makes it possible to increase the efficiency of assessment and significant reduction in analysis time. The research results confirmed the high efficiency of the chosen format of the impedimetric assessment method.

Keywords: toxicity, marker of toxic action, vital activity parameter of the test organism, test culture, cytotoxic effect.

References

1. Dudchik N. V. Investigation of the properties of the soil microbial consortium as a test objects for estimation of integral toxicity. *Gig i Sanit.* 2012; 5: 82–4. (in Russian)

2. Dudchik N. V., Mel'nikova L. A., Yaneckaya S. A., Trejlib V. V. Alternative toxicity testing: application of impedance technology methods in toxicological and hygienic practice. *Bull of the Rus Military Med Acad.* 2008; 3, Pril. 2: 148. (in Russian)

3. Zinchenko A. J., Barai V. N., Bokut S. B. et al. Synthesis of 2'-deoxythymidine by an enzymatic transdeoxyrinosylation. *Biotechnol Lett.* 1990; 12(5): 341–6.

4. Filonyuk V. A., Shevlyakov V. V., Dudchik N. V. Methodology for hygienic regulation of microbial preparations and development of methods for measuring the content of microorganisms in the air of the working area. Minsk: BeLNIIT «Transtekhnika»; 2018. 264 p. (in Russian)

5. Scholz S., Brack W., Escher B. I. et al. The EU chemicals strategy for sustainability: an opportunity to develop new approaches for hazard and risk assessment. *Arch. of Toxicol.* 2022; 96 (8): 2381–6.

6. Vlasenko E. K., Voitovich A. M., Grynchak V. A. et al. Study of the mutagenic activity of 5-aminolevulinic acid hexyl ester in in vitro tests. In: Sychik S.I., chief ed. *Zdorov'e i okruzhayushchaya sreda (Health and environment): Collection of scientific papers of the Scientific Practical Centre of Hygiene*. Vol. 2. Iss. 25. Minsk; 2015: 79–82. (in Russian).

e-mail для переписки: n_dudchik@mail.ru

Поступила 07.10.2024

УДК 615.3:579.6:613.63

*Земцова В. О., Богданов Р. В., Шевляков В. В., Филонюк В. А.¹, Емельянова О. А.,
Эрм Г. И., Чернышова Е. В., Студеничник Т. С., Силич А. И.*

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТОКСИЧЕСКОГО, АЛЛЕРГИЧЕСКОГО И ДИСБИОТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НА ОРГАНИЗМ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ КЛИНДАМИЦИНА ГИДРОХЛОРИД ПРИ СУБХРОНИЧЕСКОМ ИНГАЛЯЦИОННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

¹ Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Обязательными параметрами для обоснования ПДК в воздухе рабочей зоны фармацевтической субстанции антибиотика клиндамицина гидрохлорид (далее – КГ) является определение его пороговых концентраций токсического, аллергического и дисбиотического действия при субхроническом ингаляционном воздействии на организм белых крыс, что определило актуальность и цель настоящих экспериментальных исследований.

Установлено, что при ингаляционном воздействии в течение месяца на организм белых крыс концентрации КГ на уровне 275 и 55 мг/м³ являлись эффективными по токсическому и аллергическому действию на организм, а концентрация на уровне 27,5 мг/м³ определена как пороговая субхронического токсического действия по лимитирующему показателю наличия лейкоцитов в моче и пороговая хронического аллергического действия ($Lim_{ch\,al}$) по лимитирующему показателю сенсibilизации по гиперчувствительности замедленного типа.

КГ после одного месяца ингаляционного воздействия в испытанных 4-х последовательно снижающихся концентрациях вызывал у белых крыс опытной группы развитие дисбактериоза, характеризующегося существенными сдвигами нескольких индикаторных показателей количественного состава микробиоты кишечника, которые нормализовались после восстановительного периода в течение месяца. Минимальная концентрация КГ на уровне 13,5 мг/м³, еще вызывающая умеренно выраженные дисбактериальные реакции, обоснована как пороговая хронического ингаляционного дисбиотического действия на организм ($Lim_{ch\,am}$), а на уровне 5,5 мг/м³ – недействующая концентрация.

Ключевые слова: фармацевтическая субстанция антибиотика клиндамицина гидрохлорид, субхроническое ингаляционное воздействие, пороговые концентрации токсического, аллергического и дисбиотического действия на организм.

Введение. Загрязнение воздуха рабочей зоны аэрозолями антибактериальных лекарственных средств (далее – АБЛС) представляет высокий риск развития у работников профессиональных и производственно обусловленных заболеваний, поскольку АБЛС могут проявлять общетоксическое и специфическое дисбиотическое и аллергическое вредное действие на организм. Так, например, установлено, что изучаемая фармацевтическая субстанция антибиотика клиндамицина гидрохлорид обладает токсичностью в острых и субхронических опытах [1], дифференцирована как сильный промышленный аллерген и отнесена к 1 классу аллергенной опасности [2], вызывает развитие дисбактериальных реакций в организме при однократной ингаляции. Основной мерой профилактики вредного действия АБЛС и, в частности, КГ, является обоснование их ПДК в воздухе рабочей зоны (далее – ПДКврз). При этом для их установления обязательным параметром является установление пороговых концентраций

токсического, аллергического и дисбиотического действия при субхроническом ингаляционном воздействии на организм белых крыс, что определило актуальность таких экспериментальных исследований в отношении КГ.

Цель работы – установить пороговые концентрации токсического, аллергического и дисбиотического действия фармацевтической субстанции клиндамицина гидрохлорид при субхроническом ингаляционном воздействии на организм белых крыс.

Материалы и методы. Объектом исследования являлась фармацевтическая субстанция антибиотика клиндамицина гидрохлорид. Экспериментальные исследования выполнены в соответствии с инструктивно-методическими документами, утвержденными Министерством здравоохранения Республики Беларусь [3–6].

Определение лимитирующих показателей и порогов субхронического ингаляционного токсического, антимикробного ($Lim_{ch\ am}$) и аллергического действия ($Lim_{ch\ al}$) КГ проводили по [4, 5] в одном эксперименте при интраназальном введении белым крысам в стандартной дозе препарата (по 0,1 см³ раствора) ежедневно 5 раз в неделю в течение 1 месяца в 3-х расчетных концентрациях КГ: 1 опытная группа – 275 мг/м³, 2 опытная группа – 55 мг/м³, 3 опытная группа – 27,5 мг/м³; дополнительно для установления порога дисбиотического действия выполнены ингаляционные опыты в более низких концентрациях КГ на уровне 13,5 и 5,5 мг/м³; животным 2-х контрольных групп аналогично вводили по 0,1 мл дистиллированной воды.

После завершения эксперимента у животных всех групп определяли комплекс показателей (физиологические, относительные коэффициенты внутренних органов (далее – ОКМ), гематологические и биохимические показатели сыворотки крови, показатели мочевыделительной системы и другие, возможно отражающие развитие в организме интоксикации [4].

Оценку аллергического действия препарата проводили по результатам определения у животных опытных и контрольных групп показателей активной кожной анафилаксии (далее – АКА) и гиперчувствительности замедленного типа (далее – ГЗТ) при постановке внутрикожного теста опухания лапы (далее – ВТОЛ) через 1 и 24 часа после провокационной внутрикожной пробы с разрешающей дозой препарата [4].

Оценку антимикробного действия КГ проводили по количественной характеристике индикаторных показателей микробиоты кишечника при бактериологическом исследовании фекалий животных (по 6 особей каждой группы) до (фон), через 2 недели и после 30 дней эксперимента, через 1 месяц после его окончания (восстановительный период) [6].

Условия содержания, обращения, проведения экспериментов и выведения лабораторных животных из опыта соответствовали правилам гуманного отношения к животным в соответствии с принципами Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (1986), Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза (2010) по охране животных, используемых в научных целях.

Результаты исследования подвергались статистической обработке общепринятыми методами параметрической и непараметрической статистики с использованием лицензионного программного обеспечения Microsoft Excel 2021 (Microsoft, США) и Statistica 13 (StatSoft, США). В качестве критерия достоверности различий между сравниваемыми показателями принимали уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Результаты исследования токсического и аллергического действия КГ после завершения субхронического ингаляционного эксперимента приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Морфофункциональные показатели белых крыс после субхронического ингаляционного воздействия клиндамицина гидрохлорида в снижающихся концентрациях

Изучаемые показатели, единицы измерения	Группы сравнения, n = 10, Me (Q_{25} – Q_{75})			
	контрольная группа	1 опытная группа КГ – 275 мг/м ³	2 опытная группа КГ– 55 мг/м ³	3 опытная группа КГ – 27,5 мг/м ³
Физиологические показатели				
Масса тела, кг ⁻³	202,88 (184–337)	194,5 (181–204)	208,88 (198–228)	196,88 (184–216)
Суммационно-пороговый показатель, вольт	0,60 (0,60–0,60)	0,64 (0,62–0,65)	0,67 (0,65–0,69)	0,62 (0,61–0,64)
Частота сердечных сокращений, уд. в мин	443,5 (428,0–458)	451,0 (420,0–482,0)	454,5 (435,0–473,5)	441,1 (413,2–469,4)

Изучаемые показатели, единицы измерения	Группы сравнения, n = 10, Me (Q ₂₅ -Q ₇₅)			
	контрольная группа	1 опытная группа КГ – 275 мг/м ³	2 опытная группа КГ– 55 мг/м ³	3 опытная группа КГ – 27,5 мг/м ³
Артериальное давление, мм рт. ст.	107,5 (90,3–124,5)	109,3 (97,7–121,5)	114,1 (92,5–136,1)	112,8 (98,7–126,3)
Относительные коэффициенты массы (ОКМ) внутренних органов, кг ³ /кг:				
Почки	0,67 (0,4–0,82)	0,73 (0,63–0,87)	0,74 (0,66–0,83)	0,76 (0,68–0,87)
Печень	3,37 (2,99–3,84)	3,55 (3,06–4,01)	3,51 (3,20–3,93)	3,59 (2,96–3,92)
Сердце	0,37 (0,25–0,52)	0,37 (0,28–0,45)	0,39 (0,3–0,53)	0,41 (0,34–0,52)
Селезенка	0,61 (0,5–0,78)	0,58 (0,28–0,8)	0,57 (0,41–0,76)	0,57 (0,37–0,97)
Легкие	0,91 (0,68–1,19)	0,85 (0,61–1,33)	0,89 (0,0,6–1,22)	0,81 (0,36–1,08)
Гематологические показатели периферической крови				
Гемоглобин, г/л	147,6 (135,0–161,0)	155,5 (141,0–164,0)	142,8 (129,0–158,0)	152,1 (140,0–171,0)
Эритроциты, 10 ¹² /л	7,35 (6,16–8,04)	7,05 (6,13–7,95)	6,76 (6,26–7,14)	7,12 (6,47–7,72)
Сред. объем эритроцитов (эр.)	48,66 (19,80–60,20)	55,55 (50,8–66,4)	53,86 (52,6–54,8)	52,26 (44,2–55,7)
Сред. концентрация гемоглобина в эр.	389,9 (379,0–400,0)	401,3*** (395,0–414,0)	398,3* (394,0–403,0)	392,0 (382,0–407,0)
Распределение эр., CV	15,4 (13,6–16,7)	14,6 (13,9–15,8)	14,79 (13,9–17,8)	14,9 (13,7–16,2)
Распределение эр., SD	27,8 (26,0–32,3)	28,58 (26,10–32,2)	28,09 (26,1–32,1)	27,99 (26,1–30,0)
Гематокрит, усл. ед.	0,378 (0,343–0,414)	0,389 (0,358–0,407)	0,364 (0,335–0,388)	0,382 (0,351–0,426)
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	711,6 (570,0–1019,0)	758,0 (578,0–982,0)	767,6 (610,0–934,0)	798,3 (621,0–928,0)
Сред. объем тромбоцитов в крови	6,89 (6,50–7,50)	6,83 (6,50–7,20)	6,61 (6,1–7,00)	6,68 (6,30–7,10)
Тромбоцитарная масса, %	0,487 (0,407–0,652)	0,515 (0,416–0,638)	0,506 (0,403–0,603)	0,530 (0,435–0,624)
Распределение тромбоцитов	14,81 (13,20–16,10)	14,78 (13,20–15,90)	14,48 (13,50–15,40)	14,06 (13,40–14,90)
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	12,66 (8,3–15,3)	13,56 (9,8–17,8)	13,79 (6,6–22,2)	10,51 (7,0–18,9)
Морфологический состав лейкоцитов				
Лимфоциты, %	72,9 (47,6–85,3)	77,43 (68,1–82,2)	77,16 (57,6–89,9)	69,3 (49,1–79,1)
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	9,31 (5,2–13,1)	10,56 (7,8–14,3)	11,06 (5,00–17,9)	7,13 (4,6–9,7)
Моноциты, %	12,5 (8,5–18,0)	16,1 (10,2–14,5)	11,1 (7,9–17,0)	11,8 (8,2–14,5)
Моноциты, 10 ⁹ /л	1,55 (1,1–2,2)	1,81 (1,1–5,1)	1,45 (0,9–1,9)	1,6 (0,9–2,7)
Гранулоциты, %	12,5 (8,5–18,0)	16,1 (10,2–26,9)	11,83 (8,2–14,5)	11,1 (7,9–17,0)
Гранулоциты, 10 ⁹ /л	1,84 (0,8–5,1)	1,63 (0,9–4,5)	1,53 (1,0–2,1)	1,13 (0,7–1,7)
Биохимические показатели сыворотки крови				
Лактатдегидрогеназа, Ед/л	1292,0 (1264–2224)	2081,63 (1650–2283)	2106,4 (1662–2268)	2158,3 (2034–2214)
Щелочная фосфатаза, Ед/л	201,4 (115,5–311,5)	242,2 (140,4–368,7)	242,2 (140,4–368,7)	244,4 (150,3–303,1)

Изучаемые показатели, единицы измерения	Группы сравнения, n = 10, Ме (Q ₂₅ -Q ₇₅)			
	контрольная группа	1 опытная группа КГ – 275 мг/м ³	2 опытная группа КГ– 55 мг/м ³	3 опытная группа КГ – 27,5 мг/м ³
Аланинаминотрансфераза, Ед/л	50,15 (30,0–78,3)	61,69 (17,1–85,8)	56,96 (38,7–84,4)	53,66 (25,6–78,8)
Аспаратаминотрансфераза, Ед/л	6,04 (1,00–16,7)	7,29 (1,70–21,1)	5,01 (0,50–11,1)	4,20 (0,90–10,40)
Кальций, мкмоль/л	3,08 (2,37–4,01)	3,03 (2,57–3,51)	2,97 (2,55–3,92)	2,78 (2,39–3,28)
Железо, мкмоль/л	39,30 (25,63–49,49)	55,94** (42,2–75,56)	50,87* (32,2–68,2)	44,39 (20,81–63,63)
Глюкоза, ммоль/л	7,62 (6,47–8,49)	7,63 (7,07–8,19)	8,00 (7,38–9,7)	8,15 (7,53–9,24)
Общий белок, г/л	72,53 (62,0–75,60)	77,38* (72,0–84,5)	71,83 (68,7–75,2)	71,67 (68,7–75,2)
Альбумин, г/л	32,51 (26,0–38,3)	32,58 (30,5–35,3)	32,30 (26,9–38,9)	34,11 (30,4–38,9)
Мочевая кислота, мкмоль/л	86,13 (50,00–135,0)	249,25*** (172,0–320,0)	93,00 (60,00–127,00)	68,25 (0,00–123)
Мочевина, ммоль/л	5,93 (4,10–12,87)	5,58 (4,13–10,1)	5,51 (4,79–6,61)	4,98 (4,42–5,59)
Креатинин, ммоль/л	29,9 (4,40–38,8)	29,5 (23,9–36,4)	30,7 (19,0–42,1)	37,4 (23,8–10,4)
Холестерина, моль/л	1,74 (1,53–2,10)	1,70 (1,42–1,97)	1,72 (1,42–1,97)	1,88 (1,37–2,05)
Мочевыделительная система (показатели мочи)				
рН мочи	6,69 (6,5–7,0)	6,44 (6,0–7,0)	6,63 (6,5–7,0)	6,69 (6,5–7,0)
Удельная масса мочи	1,015 (1,012–1,018)	1,019* (1,015–1,028)	1,017 (1,011–1,028)	1,015 (1,011–1,02)
Содержание белка, г/л	0,0	0,0	0,0	0,0
Содержание глюкозы, мг/дл	0,0	0,0	0,0	0,0
Кол. лейкоцитов, в 1 мкл мочи	0,0	43,75*** (25,0–75,0)	28,13** (0,0–75,0)	25,0*** (25,0–25,0)
Билирубин, мг / 100 мл	0,0	20,63* (0,0–50,0)	0,94 (0,0–7,5)	0,0
Аскорбиновая кислота, г/л	0,0	0,0	0,0	0,0
Аллергологические показатели при внутрикожном тестировании КГ (M ± m)				
ВТОЛ:				
– АКА 10 ⁻² мм	18,3 ± 2,96	31,6 ± 7,79	24,1 ± 6,21	16,9 ± 4,56
– ГЗТ 10 ⁻² мм	11,8 ± 1,79	43,7 ± 7,58***	25,5 ± 7,01 ⁰	16,9 ± 3,92
Н	7/10	10/10	8/10	7/10
Балл	0,70 ± 0,15	3,90 ± 0,46***, 1)	1,80 ± 0,51 ⁰	1,30 ± 0,37
<p>* достоверные различия с контролем при p < 0,05 по критерию U или t; ** достоверные различия с контролем при p < 0,01 по критерию U или t; *** достоверные различия с контролем при p < 0,001 по критерию U или t; ⁰ статистическая тенденция различия с контролем при p < 0,1 по критерию U или t; 1) достоверные различия с контролем при p < 0,01 по критерию «X».</p> <p>Примечание – Н – числитель – количество животных с положительными результатами, знаменатель – всего в группе.</p>				

Изученные физиологические показатели (масса тела, суммационно-пороговый показатель, частота сердечных сокращений, артериальное давление) белых крыс опытных групп не имели существенных различий с таковыми в контрольной группе как до (фоновые, исходные), так и после завершения ингаляционного воздействия в течение месяца. Не установлены также достоверные различия величин относительных коэффициентов массы внутренних органов опытных животных всех групп по сравнению с таковыми у группы контрольных белых крыс.

Определено существенное возрастание средней концентрации гемоглобина в эритроцитах животных 1 опытной группы ($p < 0,001$) и 2 опытной группы ($p < 0,05$) по сравнению с контролем при средних величинах показателей содержания гемоглобина и количества эритроцитов в периферической крови, среднего объема эритроцитов в пределах их колебаний у белых крыс контрольной группы. Причем все другие изученные гематологические показатели периферической крови, а также все абсолютные и относительные показатели морфологического состава лейкоцитов (лейкоцитарная формула) у белых крыс опытных групп отличались от таковых у контрольных животных.

У животных опытных групп не выявлены по отношению к контролю значимые сдвиги биохимических показателей сыворотки крови, характеризующие метаболические функции гепатобилиарной сферы (активность ферментов лактатдегидрогеназы, аланин- и аспаратаминотрансфераз, щелочной фосфатазы, содержание глюкозы), азотистый и липидный обмен (содержание мочевины, креатинина, холестерина).

Однако у животных 1 опытной группы установлено увеличение в сыворотке крови концентрации железа на 42,3 % ($p < 0,01$), содержания общего белка на 6,7 % ($p < 0,05$) и особенно содержания мочевой кислоты (в 2,9 раза, $p < 0,001$), нарушение мочевыделительной функции почек, проявляющееся высокими показателями удельной массы мочи ($p < 0,05$), содержания билирубина ($p < 0,05$) и количества лейкоцитов в моче ($p < 0,001$) по сравнению с их величинами у контрольных животных. У опытных белых крыс 2 группы в сыворотке крови определено только существенное возрастание концентрации железа на 29,4 % ($p < 0,05$), а у животных 2 и 3 групп – высокое по отношению к контролю количество лейкоцитов в моче ($p < 0,01$ и $p < 0,001$ соответственно), но средние величины всех других изученных показателей мочи находились в пределах колебания контроля.

Следовательно, концентрации КГ на уровне 275 и 55 мг/м³ при субхроническом ингаляционном воздействии на белых крыс являются эффективными по токсическому действию на организм, а концентрация на уровне 27,5 мг/м³ по лимитирующему показателю количества лейкоцитов в моче является пороговой.

Внутрикожным провокационным тестированием КГ животных всех опытных групп не установлено существенного формирования в их организме аллергической реакции немедленного анафилактического типа, поскольку величины активной кожной анафилаксии (далее – АКА) не имели значимых различий с контролем. В то же время величины абсолютного показателя ВТОЛ (через 24 часа после тестирования) превышали у белых крыс 1 опытной группы в 3,7 раза ($p < 0,001$), а у животных 2 опытной группы в 2,16 раз ($p < 0,1$) таковые в контрольной группе. Следовательно, ингаляционное воздействие КГ особенно в высоких концентрациях вызывало развитие у животных опытных групп клеточно-опосредованной аллергической реакции замедленного типа. Это подтверждалось высокими величинами интегрального показателя ВТОЛ, особенно у животных 1 и 2 опытных групп, превышающими таковую в контрольной группе соответственно в 5,57 раза ($p < 0,001$) и в 2,57 раза ($p < 0,1$).

Следует отметить достаточно высокую частоту положительной тест-реакции выраженностью в 1 балл у интактных контрольных животных (7 из 10), что свидетельствует о неспецифическом их характере. Однако положительные кожные тест-реакции регистрировались у 10 из 10 опытных животных 1 группы с выраженностью 2–5 баллов у 9 из них (величина статистического критерия $X = 6,726$, $p < 0,01$), у белых крыс 2 опытной группы частота положительных тест-реакций составляла 8 из 10, а с выраженностью 2–5 баллов у 5 из них (но $X = 3,38$, $p > 0,05$). Даже из 7 животных 3 опытной группы с положительной кожной реакцией отмечена у 4 с выраженностью 2–3 балла.

Таким образом, ингалируемые концентрации КГ на уровне 275 и 55 мг/м³ являются эффективно действующими по аллергическому эффекту, а концентрация КГ на уровне 27,5 мг/м³ с учетом критериев нормирования алергоопасных промышленных аэрозолей [4] может быть определена как пороговая по хроническому специфическому аллергическому действию на организм ($Lim_{ch\,al}$), поскольку вызывала развитие в организме 40 % опытных белых крыс выраженной ГЗТ без существенных различий средних величин интегрального показателя ВТОЛ в опытной и контрольной группах.

Фоновая количественная характеристика микробиоты кишечника белых крыс в опытных группах не имела существенных различий от таковой в контрольной группе (таблица 2).

Таблица 2 – Количественная характеристика микробиоты кишечника белых крыс до, через 2 недели, после завершения месячного ингаляционного воздействия клиндамицина гидрохлорида в изученных концентрациях и после восстановительного периода (1 месяц)

Исследуемые группы микроорганизмов в микрофлоре кишечника, экспозиция измерения		Содержание микроорганизмов в группах сравнения (n = 6 на каждом измерении, M ± m lg КОЕ/г)			
		контрольная группа	1 опытная группа 275 мг/м ³	2 опытная группа 55 мг/м ³	3 опытная группа 27,5 мг/м ³
Бифидобактерии	фон	9,08 ± 0,10	8,98 ± 0,15	8,98 ± 0,08	8,93 ± 0,19
	2 нед. ингал.	9,24 ± 0,11	7,68 ± 0,36**	8,26 ± 0,27**	8,77 ± 0,23
	1 мес. игал.	9,65 ± 0,10	9,46 ± 0,16	9,02 ± 0,06**	8,82 ± 0,11**
	восст. период	9,07 ± 0,10	8,99 ± 0,17	8,97 ± 0,70	8,81 ± 0,25
Кишечная палочка	фон	7,07 ± 0,20	7,17 ± 0,21	7,12 ± 0,26	7,13 ± 0,18
	2 нед. ингал.	7,05 ± 0,20	5,85 ± 0,26**	5,90 ± 0,21**	5,93 ± 0,27**
	1 мес. игал.	5,98 ± 0,12	6,65 ± 0,16*	4,00 ± 0,00**	4,00 ± 0,00**
	восст. период	5,87 ± 0,40	6,02 ± 0,12	6,01 ± 0,07	5,77 ± 0,24
Золотистый стафилококк	фон	5,97 ± 0,11	5,91 ± 0,13	5,69 ± 0,14	6,04 ± 0,16
	2 нед. ингал.	5,62 ± 0,13	5,69 ± 0,12	5,47 ± 0,12	5,53 ± 0,13
	1 мес. игал.	5,00 ± 0,00	7,64 ± 0,27**	6,83 ± 0,40**	6,14 ± 0,31**
	восст. период	5,00 ± 0,00	5,68 ± 0,032	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00
Энтерококки	фон	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00
	2 нед. ингал.	5,88 ± 0,17	5,22 ± 0,36	5,70 ± 0,19	5,81 ± 0,18
	1 мес. игал.	7,96 ± 0,08	7,40 ± 0,20*	7,68 ± 0,21	7,85 ± 0,24
	восст. период	7,64 ± 0,08	7,87 ± 0,09	7,39 ± 0,13	7,39 ± 0,14
Лактозонегативные Г-бактерии	фон	6,33 ± 0,11	6,1 ± 0,12	6,06 ± 0,20	6,37 ± 0,15
	2 нед. ингал.	5,94 ± 0,10	5,23 ± 0,23*	5,81 ± 0,17	5,91 ± 0,18
	1 мес. игал.	6,38 ± 0,12	7,93 ± 0,11**	7,32 ± 0,42**	7,33 ± 0,09**
	восст. период	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00	5,00 ± 0,00
Клостридии	фон	6,79 ± 0,15	7,26 ± 0,15	7,16 ± 0,25	7,19 ± 0,16
	2 нед. ингал.	7,00 ± 0,72	6,9 ± 0,28	6,57 ± 0,31	7,19 ± 0,12
	1 мес. игал.	7,92 ± 0,10	9,29 ± 0,12**	8,86 ± 0,19**	8,53 ± 0,21**
	восст. период	8,00 ± 0,00	8,00 ± 0,00	8,00 ± 0,00	8,00 ± 0,00

* достоверные различия с контролем при p < 0,05 по критерию U;
** достоверные различия с контролем при p < 0,01 по критерию U.

Двухнедельное ингаляционное воздействие КГ в высокой концентрации сопровождалось существенным снижением в микробиоте кишечника животных 1 опытной группы содержания бифидобактерий и кишечной палочки на фоне возрастания количества лактозонегативных грамотрицательных бактерий по сравнению с контролем (p < 0,01).

При увеличении экспозиции воздействия КГ до 1 месяца отмечена у опытных животных нормализация содержания в кишечнике бифидобактерий до величин контроля при значительном возрастании количества условно-патогенной микрофлоры – *E. coli* и *S. aureus*, лактозонегативных грамотрицательных бактерий и клостридий (p < 0,01) на фоне снижения содержания энтерококков (p < 0,05) по отношению к их содержанию в кишечнике белых крыс контрольной группы.

На более низкую ингалируемую в течение 2-х недель концентрацию КГ (55 мг/м³) у животных 2 опытной группы отмечались сходные сдвиги в микробиоте кишечника с таковыми у опытных белых крыс 1 группы, но установлено только достоверное снижение содержания бифидобактерий и кишечной палочки (p < 0,01). После месячного ингаляционного воздействия КГ нарушения в микрофлоре кишечника опытных животных значительно возрастали, характеризовались сохранением существенного снижения количества бифидобактерий и кишечной палочки (p < 0,01) с достоверным возрастанием содержания в кишечнике золотистого стафилококка, лактозонегативных грамотрицательных бактерий и клостридий по сравнению с контролем (p < 0,01).

На минимально испытанную концентрацию КГ на уровне 27,5 мг/м³ со стороны показателей микробиоты кишечника опытных животных 3 группы также определены достоверные сдвиги через 2 и 4 недели ингаляционного воздействия, подобные таковым у белых крыс на более высокие концентрации (таблица 2).

Следует отметить, что на все испытанные высокие концентрации КГ у опытных крыс после месячного восстановительного периода нарушенные показатели микрофлоры кишечника нормализовались и не отличались от величин у контрольных животных.

В выполненных дополнительных экспериментах по оценке влияния на микрофлору кишечника белых крыс месячного ингаляционного воздействия КГ в 2 и 5 раз ниже минимальной испытанной концентрации установлено следующее (таблица 3). Во все сроки исследования у опытных животных 4 и 5 групп величины содержания большинства индикаторных микроорганизмов в кишечнике находились в пределах колебаний таковых у контрольных белых крыс.

Таблица 3 – Количественная характеристика микрофлоры кишечника белых крыс при субхроническом ингаляционном воздействии клиндамицина гидрохлорида в изученных низких концентрациях

Изучаемые группы микроорганизмов в микрофлоре кишечника, экспозиция измерения		Содержание микроорганизмов в группах сравнения (n = 6 на каждом измерении, M ± m lg КОЕ/г)		
		контрольная группа	4 опытная группа КГ = 13,5 мг/м ³	5 опытная группа КГ = 5,5 мг/м ³
Бифидобактерии:	фон	8,96 ± 0,11	9,08 ± 0,12	8,98 ± 0,07
	2 нед. ингал.	9,17 ± 0,13	9,12 ± 0,12	9,05 ± 0,08
	1 мес. ингал.	9,49 ± 0,08	9,28 ± 0,02	9,34 ± 0,06
	восст. период	8,67 ± 0,02	8,86 ± 0,15	8,95 ± 0,06
<i>E.coli</i> :	фон	5,91 ± 0,33	6,05 ± 0,11	6,06 ± 0,08
	2 нед. ингал.	6,25 ± 0,26	6,14 ± 0,09	6,09 ± 0,08
	1 мес. ингал.	6,03 ± 0,06	5,85 ± 0,09	5,86 ± 0,07
	восст. период	6,20 ± 0,16	6,14 ± 0,10	6,13 ± 0,11
<i>S. aureus</i> :	фон	6,13 ± 0,17	5,38 ± 0,38	5,83 ± 0,17
	2 нед. ингал.	5,12 ± 0,07	5,34 ± 0,012	5,34 ± 0,13
	1 мес. ингал.	5,20 ± 0,20	5,22 ± 0,03	5,46 ± 0,12
	восст. период	5,14 ± 0,10	5,15 ± 0,06	5,12 ± 0,08
Энтерококки:	фон	7,83 ± 0,09	7,98 ± 0,11	8,04 ± 0,26
	2 нед. ингал.	7,46 ± 0,12	7,49 ± 0,15	7,58 ± 0,08
	1 мес. ингал.	7,06 ± 0,08	7,25 ± 0,08	7,20 ± 0,09
	восст. период	6,85 ± 0,06	6,7 ± 0,07	7,01 ± 0,05
Лактозонегативные Г- бактерии:	фон	7,72 ± 0,19	7,32 ± 0,11	7,93 ± 0,14
	2 нед. ингал.	6,80 ± 0,11	6,93 ± 0,17	6,98 ± 0,21
	1 мес. ингал.	5,57 ± 0,16	5,46 ± 0,08	5,59 ± 0,10
	восст. период	5,34 ± 0,08	5,31 ± 0,09	5,59 ± 0,10
Клостридии:	фон	8,01 ± 0,00	8,03 ± 0,01	8,02 ± 0,00
	2 нед. ингал.	8,00 ± 0,00	8,02 ± 0,01	8,01 ± 0,01
	1 мес. ингал.	8,03 ± 0,05	8,42 ± 0,10*	8,20 ± 0,09
	восст. период	9,26 ± 0,10	9,03 ± 0,08	9,05 ± 0,07

* достоверные различия с контролем при p < 0,01 по критерию U.

Ингаляционное воздействие в течение месяца КГ в концентрации на уровне 13,5 мг/м³ также вызывало существенное повышение в микробиоте опытных животных содержания клостридий по сравнению с контролем (p < 0,01), причем их количество превышало пределы + 2σ среднегруппового значения этого показателя у контрольных животных, что соответствует критерию развития дисбактериоза. Однако после восстановительного периода количественные параметры всех показателей в микрофлоре кишечника опытных животных обеих групп не отличались от контроля (таблица 3).

За пороговую принимают минимальную концентрацию исследованного биопрепарата, на которую установлено умеренно выраженное дисбиотическое действие, характеризующееся достоверными различиями с контролем показателей количественного состава микрофлоры кишечника опытных животных после воздействия более чем в 2 группах, но после восстановительного периода различия исчезают [5]. Данный критерий вполне объективно может быть использован для определения пороговой концентрации субхронического ингаляционного действия АБЛС на микробиоту кишечника белых крыс.

Исходя из полученных результатов к пороговой по дисбиотическому действию на организм белых крыс можно отнести испытанную концентрацию хронического ингаляционного воздействия КГ на уровне 13,5 мг/м³.

Заключение. Из представленных результатов исследований можно сделать следующие выводы.

1. При субхроническом (в течение месяца) ингаляционном воздействии на организм белых крыс КГ установлено, что его концентрации на уровне 275 и 55 мг/м³ являются эффективными по токсическому и аллергическому действию на организм, а концентрация на уровне 27,5 мг/м³ определена как пороговая субхронического токсического действия по лимитирующему показателю высокого количества лейкоцитов в моче и пороговая хронического аллергического действия ($Lim_{ch\,al}$) по лимитирующему показателю сенсибилизации по гиперчувствительности замедленного типа более 30 % опытных животных.

2. На все испытанные высокие концентрации КГ у опытных белых крыс после 2-х недельного и месячного ингаляционного воздействия установлены достоверные (при $p < 0,01-0,001$) разнонаправленные сдвиги со стороны 4–5 из 6 изученных индикаторных показателей количественного состава микробиоты кишечника, а их величины выходили за пределы физиологических колебаний ($\pm 2\sigma$) среднegrupповых значений этих показателей у контрольных животных. Однако после месячного восстановительного периода нарушенные показатели микрофлоры кишечника нормализовались и не отличались от таковых у контрольных животных.

3. При снижении ингалируемых концентраций КГ до 13,5 и 5,5 мг/м³ у опытных белых крыс величины содержания индикаторных микроорганизмов в кишечнике во все сроки измерения находились в пределах колебаний таковых у контрольных животных, за исключением существенного повышения содержания клостридий в микробиоте опытных животных после завершения месячного воздействия КГ в концентрации 13,5 мг/м³, причем их количество превышало пределы $+ 2\sigma$ среднegrupпового значения этого показателя у контрольных животных, что соответствует критерию развития дисбактериоза. Учитывая нормализацию количественных параметров всех показателей микрофлоры кишечника опытных животных после месячного восстановительного периода, обоснована как пороговая хронического ингаляционного дисбиотического действия на организм ($Lim_{ch\,am}$) концентрация КГ на уровне 13,5 мг/м³, а недействующая – на уровне 5,5 мг/м³.

Сведения о НИР. НИР «Разработать метод гигиенического нормирования антибактериальных лекарственных средств в воздухе рабочей зоны» подпрограммы «Безопасность среды обитания человека» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», 2021–2025 годы, регистрационный номер 20221232.

Литература

1. Земцова, В. О. Особенности биологического действия фармацевтической субстанции клиндамицина гидрохлорид в субхроническом эксперименте / В. О. Земцова, В. В. Шевляков, Р. В. Богданов, В. М. Васильевич // Медицинская наука: вчера, сегодня, завтра : сб. статей и тез. Всерос. междунар. Форума молодых ученых, посвящ. 200-летию РАН и 80-летию создания РАМН. – М. : Изд. «Тритон», 2024. – С. 1774–1780.

2. Оценка степени сенсибилизирующей способности и аллергенной опасности фармацевтической субстанции клиндамицина гидрохлорид в экспериментах на белых мышах / Земцова В. О. [и др.] // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики : реценз. ежегод. сб. науч. тр. : в 2 т. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, Бел. гос. мед. ун-т ; под ред. С. П. Рубникович, В. А. Филонюк. – Минск : ИВЦ Минфина, 2024. – Вып. 14. – Т. 2 : Фундаментальная наука – медицине. Профилактическая медицина. – С. 110–116.

3. Постановка исследований для обоснования предельно допустимых концентраций антибиотиков в воздухе рабочей зоны : методические указания № 5051-89 : утв. зам. государ. санитарного врача СССР от 18.06.1989 / М-во здравоохранения СССР. – М., 1989. – 22 с.

4. Требования к постановке экспериментальных исследований по изучению аллергенных свойств и обоснованию предельно допустимых концентраций химических аллергенов в воздухе рабочей зоны и атмосферы : метод. указания № 1.1.11-12-5-2003 / М-во здравоохранения Респ. Беларусь ; разработ. : В. В. Шевляков [и др.] // Сборник официальных документов по медицине труда и производственной санитарии / Респ. центр гигиены, эпидем. и обществ. здоровья, Респ. науч.-практ. центр гигиены ; под общ. ред. В. П. Филонова, С. М. Соколова. – Минск : ПЧУП «Бизнесофсет», 2004. – Ч. XIV. – С. 133–156.

5. Обоснование предельно допустимых концентраций и методик выполнения измерений содержания в воздухе рабочей зоны микроорганизмов-продуцентов и микробных препаратов на их основе :

инструкция по применению № 009-1015 ; утв. Гл. гос. сан. врачом Респ. Беларусь 16.10.2015 ; разработ. : В. В. Шевляков [и др.] . – Минск, 2015. – 30 с.

6. Методы экспериментального определения дисбиотического действия микроорганизмов-продуцентов и биотехнологических препаратов на их основе : инструкция по применению № 008-0914 : утв. Гл. гос. санитар. врачом Респ. Беларусь 09.09.2014 ; разработ. : Н. В. Дудчик [и др.]. – Минск, 2014. – 14 с.

*Zemtsova V. O., Bogdanov R. V., Shevlyakov V. V., Filonyuk V. A.¹, Yemelyanova O. A.,
Erm G. I., Chernyshova E. V., Studenichnik T. S., Silich A. I.*

EXPERIMENTAL EVALUATION OF TOXIC, ALLERGIC AND DYSBIOTIC EFFECTS ON THE BODY OF THE PHARMACEUTICAL SUBSTANCE CLINDAMYCIN HYDROCHLORIDE DURING SUBCHRONIC INHALATION EXPOSURE

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

¹ Educational Institution «Belarusian State Medical University», Minsk, Belarus

Mandatory parameters for substantiating the MCL in the air of the working area of the pharmaceutical substance of the antibiotic clindamycin hydrochloride (hereinafter – CH) are the determination of threshold concentrations of toxic, allergic and dysbiotic effects during subchronic inhalation exposure to the body of white rats, which determined the relevance and purpose of these experimental studies. It was established that during inhalation exposure for a month on the body of white rats, CH concentrations at the level of 275 and 55 mg/m³ were effective in terms of toxic and allergic effects on the body, and a concentration at the level of 27.5 mg/m³ was determined as the threshold of subchronic toxic action by the limiting indicator of a high number of leukocytes in the urine and the threshold of chronic allergic action ($Lim_{ch\,al}$) by the limiting indicator of sensitization by delayed-type hypersensitivity of more than 30 % of experimental animals.

CH after a month-long inhalation exposure in the tested 4 successively decreasing concentrations caused the development of dysbacteriosis in experimental white rats, characterized by significant shifts in several indicator parameters of the quantitative composition of the intestinal microbiota, which were normalized after a month-long recovery period. The minimum concentration of CH at the level of 13.5 mg/m³, which still causes moderately expressed dysbacteriosis, is justified as the threshold of chronic inhalation dysbiotic effect ($Lim_{ch\,am}$) on the body, and at the level of 5.5 mg/m³ it was ineffective.

Keywords: pharmaceutical substance of the antibiotic clindamycin hydrochloride, subchronic inhalation exposure, threshold concentrations of toxic, allergic and dysbiotic effects on the body.

References

1. Zemtsova V. O., Shevlyakov V. V., Bogdanov R. V., Vasilkevich V. M. Features of the biological action of the pharmaceutical substance clindamycin hydrochloride in a subchronic experiment / Medical science: yesterday, today, tomorrow: collection of articles and abstracts of the All-Russian International Forum of Young Scientists, dedicated to the 200th anniversary of the Russian Academy of Sciences and the 80th anniversary of the establishment of the Russian Academy of Medical Sciences. M.: Triton Publishing House, 2024. – P. 1774–1780.

2. Zemtsova V. O., Bogdanov R. V., Shevlyakov V. V., Filonyuk V. A. et al. Evaluation of the degree of sensitizing ability and allergenic hazard of the pharmaceutical substance clindamycin hydrochloride in experiments on white mice // BSMU at the forefront of medical science and practice: review. annual collection of scientific papers: in 2 volumes / Ministry of Health of the Republic of Belarus, Belarusian State Medical University; edited by S.P. Rubnikovich, V. A. Filonyuk. Minsk; Computing and Information Center of the Ministry of Finance, 2024; Issue 14, Vol. 2: Fundamental science – medicine. Preventive medicine. – P. 110–116.

3. Setting up studies to substantiate maximum permissible concentrations of antibiotics in the air of the working area: guidelines No. 5051-89: approved by the Deputy State Sanitary Doctor of the USSR on 18.06.1989 / Ministry of Health of the USSR. Moscow, 1989, 22 p. (in Russian)

4. Requirements for the design of experimental studies on the study of allergenic properties and substantiation of maximum permissible concentrations of chemical allergens in the air of the working area and atmosphere: method. instructions No. 1.1.11-12-5-2003 / Ministry of Health of the Republic of Belarus; developed by: V. V. Shevlyakov [et al.] // Collection of official documents on occupational medicine and industrial sanitation / Republican Center for Hygiene, Epidemiological and Public Health, Republican Scientific and Practical Center for Hygiene; under the general editorship of V. P. Filonov, S. M. Sokolov. – Minsk: PChUP «BusinessOffset», 2004. – Part XIV. – Pp. 133–156.

5. Shevlyakov V. V., Filonyuk V. A., Dudchik N. V. et al. Justification of maximum permissible concentrations and methods for measuring the content of microorganisms-producers and microbial preparations based on them in the air of the working area: instructions for use No. 009-1015; approved by the Chief State Sanitary Physician of the Republic of Belarus on 16.10.2015. Minsk; 2015, 30 p. (in Russian)

6. Dudchik N. V., Filonyuk V. A., Shevlyakov V. V. Methods for experimental determination of the dysbiotic effect of producer microorganisms and biotechnological preparations based on them: instructions for use No. 008-0914; approved by the Chief State Sanitary Doctor of the Republic of Belarus on 09.09.2014. Minsk, 2014, 14 p. (in Russian)

e-mail для переписки: veto4ka1710@rambler.ru

Поступила 07.10.2024

УДК 613.63:[615.012:615.281.9]

*Земцова В. О., Богданов Р. В., Шевляков В. В., Филонюк В. А.¹,
Емельянова О. А., Чернышова Е. В., Баранов С. А., Силич А. И.*

ОБОСНОВАНИЕ И АПРОБАЦИЯ МЕТОДИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОЦЕНКИ ОСТРОГО ДИСБИОТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

*ГУ «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья»,
г. Минск, Республика Беларусь*

*¹ Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь*

Аннотация. Обязательным этапом гигиенического нормирования содержания антибактериальных лекарственных средств (далее – АБЛС) в воздухе рабочей зоны является оценка их вредного антимикробного действия на организм, что определило актуальность обоснования современных методов экспериментального определения и критериев оценки дисбиотического действия АБЛС при ингаляционном пути поступления в организм, апробация которых выполнена на примере изучения фармацевтической субстанции антибиотика клиндамицина гидрохлорид (далее – КГ).

На основании анализа литературных источников и методических документов обоснована и апробирована рациональная методика экспериментального изучения дисбиотического действия АБЛС, включающая адаптированные унифицированные условия постановки эксперимента и критерии определения порога острого антимикробного действия ($Lim_{ac,am}$) при однократном ингаляционном воздействии АБЛС на организм белых крыс.

Апробация позволила в экспериментах при однократном интраназальном воздействии КГ в концентрациях на уровне 275, 55 и 27,5 мг/м³ установить развитие в микробиоте кишечника опытных белых крыс дисбактериальных реакций, что отражалось в существенном снижении содержания кишечной палочки и значимом возрастании величины относительного коэффициента массы слепой кишки (далее – ОКМск) у животных опытных групп по сравнению с контролем. При снижении ингалируемой концентрации КГ до 13,5 и 5,5 мг/м³ у опытных белых крыс не выявлены статистически значимые сдвиги величин всех изученных индикаторных показателей микробиоты кишечника, массы тела и ОКМск по сравнению с контрольными животными после воздействия и через 6 суток восстановительного периода. В результате обоснована пороговая концентрация острого антимикробного действия КГ ($Lim_{ac,am}$) на уровне 27,5 мг/м³.

Ключевые слова: антибактериальные лекарственные средства, фармацевтическая субстанция антибиотика клиндамицина гидрохлорид, методика экспериментального определения и оценки острого ингаляционного дисбиотического действия.

Введение. По мере внедрения в промышленное производство большого количества антибактериальных лекарственных средств существенно увеличился контингент лиц, имеющих профессиональный контакт с ними. В основном при ингаляционном и контактном пути поступления в организм работников АБЛС могут проявлять общетоксическое (нейротоксическое,

нефротоксическое, гепатотоксическое, гемотоксическое) и специфическое (дисбиотическое, иммунотоксическое, аллергическое и другие) действие, обуславливая высокий риск развития профессиональных и производственно обусловленных заболеваний. При этом основным направлением обеспечения безопасных условий труда, сохранения здоровья и работоспособности работников при производстве и использовании АБЛС является обоснование их предельно допустимых концентраций в воздухе рабочей зоны (далее – ПДКврз), непременным этапом которого является оценка их вредного антимикробного действия на организм.

Отсутствие унифицированных и утвержденных Министерством здравоохранения Республики Беларусь методических документов, устанавливающих современные методы и принципы экспериментального определения и критерии оценки дисбиотического действия АБЛС при ингаляционном пути поступления в организм, послужило основой для настоящего исследования.

Цель работы – обоснование методических подходов экспериментального определения и оценки дисбиотического действия антибактериальных лекарственных средств при остром ингаляционном воздействии на организм на примере фармацевтической субстанции антибиотика клиндамицина гидрохлорид.

Материалы и методы. Объектом исследования являлась фармацевтическая субстанция антибиотика клиндамицина гидрохлорид.

Обоснование методики определения и оценки дисбиотического действия АБЛС при ингаляционном воздействии на организм белых крыс осуществляли с учетом инструктивно-методических документов и научной литературы [1–5].

Определение порога острого антимикробного действия КГ ($Lim_{ac\,am}$) осуществляли при однократном интраназальном воздействии на белых крыс по [1] в 5 концентрациях (начиная с концентрации, рассчитанной от дозы DL_{50}): 1 группа – 275 мг/м³, 2 группа – 55 мг/м³, 3 группа – 27,5 мг/м³, 4 группа – 13,5 мг/м³, 5 группа – 5,5 мг/м³, контрольные группы – по 0,1 мл дистиллированной воды.

Оценку влияния субстанции на микробиоту кишечника животных осуществляли микробиологическим обследованием фекалий белых крыс контрольных и опытных групп (по 6 особей каждой) с определением абсолютного (КОЕ/г) и относительного в логарифмах (lg КОЕ/г) количества бифидобактерий, кишечной палочки, золотистого стафилококка, фекальных энтерококков, лактозонегативных условно-патогенных грамотрицательных бактерий, клостридий – до затравки (фон), после воздействия через 24 часа и через 144 часа (восстановительный период), а также дополнительно по относительному коэффициенту массы слепой кишки [2].

Условия содержания, обращения, проведения экспериментов и выведения лабораторных животных из опыта соответствовали требованиям гуманного отношения к животным в соответствии с принципами Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (1986), Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза (2010) по охране животных, используемых в научных целях.

Результаты исследования подвергались статистической обработке общепринятыми методами параметрической и непараметрической статистики с использованием лицензионного программного обеспечения Microsoft Excel 2021 (Microsoft, США) и Statistica 13 (StatSoft, США). В качестве критерия достоверности различий между сравниваемыми показателями принимали уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Антибактериальные лекарственные средства ввиду своих свойств и назначения проявляют непосредственное бактерицидное или бактериостатическое действие на микробиоту кишечника макроорганизма не зависимо от путей поступления в организм. Поэтому при их ингаляционном воздействии на организм, наряду с токсическими, аллергическими и иммунотоксическими проявлениями, они могут оказывать дисбиотическое действие на макроорганизм, проявляющееся существенными качественно-количественными сдвигами показателей микробиоты кишечника организма.

В фоновых исследованиях определено нормальное количественное содержание микроорганизмов ($M \pm m$, lg КОЕ/г, σ) в фекалиях более 200 интактных белых крыс по 2-м основным группам (таблица 1). 1 группа бактериологических показателей включает микроорганизмы, которые встречаются в 100 % посевов: анаэробные бифидобактерии, кишечная палочка, стафилококки, в т. ч. фекальные стрептококки и лактобактерии; 2 группа показателей включает микроорганизмы, которые встречаются в 15–30 % посевов: лактозонегативные условно-патогенные грамотрицательные бактерии, клостридии и дрожжеподобные грибы рода *Candida* [2, 3].

Таблица 1 – Количественное содержание основных групп микроорганизмов в фекалиях интактных белых крыс

Микроорганизмы	Объем выборки	Частота встречаемости, %	M ± m (lg КОЕ/г)	σ
1 группа бактериологических показателей				
Анаэробные бифидобактерии	220	100	9,22 ± 0,06	0,92
Кишечные палочки	220	100	6,13 ± 0,07	1,08
Стафилококки	143	100	4,21 ± 0,08	0,90
Фекальные стрептококки	150	100	5,35 ± 0,13	1,65
Лактобактерии	219	100	8,66 ± 0,07	1,04
2 группа бактериологических показателей				
Лактозонегативные условно-патогенные грамотрицательные бактерии	173	19	3,49 ± 0,15	0,83
Клостридии	129	9	2,81 ± 0,26	0,87

Одними из основных значимых показателей нормального состояния микрофлоры кишечника белых крыс (1 группа) является преобладание в посевах фекалий типичной кишечной палочки в концентрации 10^6 – 10^8 КОЕ/г, бифидобактерий – 10^9 КОЕ/г и выше, лактобактерий – 10^7 КОЕ/г и выше, а также фекальных стрептококков и стафилококков [3].

Было показано, что существенными признаками дисбактериоза являются качественные и/или количественные нарушения равновесия между основными группами микробиоты при воздействии микроорганизмов или антибиотиков в виде снижения содержания бифидобактерий и лактобацилл соответственно менее 10^8 и 10^6 КОЕ/г, снижения количества кишечной палочки менее 10^5 КОЕ/г и появления ее атипичных лактозонегативных или слабоферментирующих разновидностей, возрастания содержания золотистого стафилококка и лактозонегативных энтеробактерий, выявления грибов рода *Candida*, атипичных разновидностей эшерихии (лактозоотрицательных или слабоферментирующих) и патогенных микроорганизмов, преобладания одной из названных групп микроорганизмов [3, 4].

Требования методических указаний № 5051-89 [2] по установлению ПДКвз антибиотиков для изучения в экспериментах повреждающего влияния на микробиоту макроорганизма и определения порога дисбиотического действия антибиотиков предусматривали:

определение среднеэффективной по антимикробному действию дозы антибиотиков по показателю ED_{50} кмск (среднеэффективная доза, вызывающая увеличение коэффициента массы слепой кишки у 50 % животных), определяемая в эксперименте однократного внутрижелудочного введения белым мышам в объеме 0,5 см³ ряда доз препарата с выделением и взвешиванием слепой кишки на следующие сутки, определением ОКМск и количества животных в процентах, показатели которых отклоняются от среднего параллельного контроля для данного опыта;

определение порога острого ингаляционного антимикробного действия антибиотиков ($Lim_{ac am}$) в экспериментах однократного ингаляционного воздействия на белых крыс в 3-х концентрациях с последующим микробиологическим обследованием фекалий животных и количественной характеристикой микроорганизмов кишечника опытных животных по сравнению с контролем до проведения затравки через 20 и 144 часа после затравки.

Реакцию нормальной микрофлоры на воздействие АБЛС предусматривалось разделять на 2 основные категории:

1. Категория – кратковременные изменения микрофлоры, не сопровождающиеся нарушением физиологических функций макроорганизма и быстро восстанавливающиеся после прекращения воздействия повреждающего агента. Так называемые дисбактериальные реакции, являющиеся отражением процесса адаптации биоценоза макроорганизма – микрофлоры к изменившимся условиям внешней среды.

2. Категория – стойкие количественные и качественные изменения микрофлоры кишечника, сохраняющиеся после окончания воздействия и, как правило, имеющие те или иные клинические проявления – дисбактериоз.

Однако приведенные критерии оценки дисбактериальных реакций и дисбактериоза не соответствуют схеме проведения бактериологических исследований при ингаляционном пути поступления [2].

Наиболее полно и адекватно приведена унифицированная методика проведения микробиологических исследований и бактериологические показатели при изучении влияния промышленных

штаммов микроорганизмов на нормальную микробиоту кишечника белых крыс в инструкции по применению № 008-0914 [5]. В инструкции также уточнены следующие современные критерии установления выраженности дисбиотического действия.

Критерии дисбактериальных реакций:

– изменения бактериологических показателей 1 категории у опытных животных статистически значимо ($p < 0,05$) отличаются от параллельного контроля, однако находятся в пределах физиологической нормы (фона) и быстро восстанавливаются после прекращения воздействия;

– изменения бактериологических показателей 2 категории у опытных животных статистически достоверно ($p < 0,01$) отличаются от контроля, но восстанавливаются после прекращения воздействия.

Критерии дисбактериоза:

– изменения у опытных животных не менее двух бактериологических показателей 1 и/или 2 категорий статистически значимо ($p < 0,05$) отличаются от параллельного контроля и выходят за пределы физиологических колебаний ($\pm 2\sigma$) среднегрупповых значений показателя контрольных животных;

– изменения у опытных животных любого из бактериологических показателей статистически значимо отличаются от контроля, не выходят за пределы физиологической нормы, однако сохраняются после окончания воздействия (в остром опыте – не менее 144 часов, в хроническом опыте – не менее 1 месяца).

В ранее действовавших методических указаниях [2] отсутствовали критерии определения пороговых концентраций острого ($Lim_{ac_{ам}}$) и хронического ($Lim_{ch_{ам}}$) антимикробного действия антибиотиков, тогда как в инструкции по применению № 009-1015 [1] по нормированию промышленных штаммов микроорганизмов уже были обоснованы и апробированы критерии определения пороговой концентрации по дисбиотическому действию на организм белых крыс. За пороговую принимают ту минимальную концентрацию исследованного штамма микроорганизма или биопрепарата, на которую установлено умеренно выраженное дисбиотическое действие, которое характеризуется статистически значимым ($p < 0,05$) изменением после воздействия у опытных животных количественного состава микрофлоры кишечника в 2-х и более группах микроорганизмов по сравнению с параллельным контролем, но после восстановительного периода достоверные различия отсутствуют. Фактически пороговой является ингалируемая концентрация ксенобиотика, вызывающая развитие у опытных животных дисбактериальных реакций, а данный критерий вполне адекватен для определения пороговой по дисбиотическому действию концентрации АБЛС в острых и субхронических ингаляционных экспериментах.

С учетом изложенного обоснована рациональная экспериментальная методика постановки ингаляционного эксперимента и определения порога острого и хронического дисбиотического действия АБЛС, апробированная на фармацевтической субстанции КГ.

В экспериментах с КГ в исходных (фоновых) посевах фекалий экспериментальных животных опытных и контрольных групп преобладали бифидобактерии, титр которых составлял не менее 10^9 Ig КОЕ/г, а также кишечная палочка с характерными морфологическими и культурально-биохимическими признаками в титре более 10^7 Ig КОЕ/г, что типично для нормальной микрофлоры кишечника (таблица 2). Однако содержание кишечной палочки у животных 2 опытной группы было в 2,1 раза ниже, чем в контрольной группе ($p < 0,01$). Достоверно более высокое исходное содержание клостридий отмечено и в 3 опытной группе по отношению к контролю.

Таблица 2 – Количественная характеристика микрофлоры кишечника белых крыс до и после острого ингаляционного воздействия клиндамицина гидрохлорида в изученных концентрациях

Изучаемые группы микроорганизмов в микрофлоре кишечника, экспозиция измерения		Содержание микроорганизмов в группах сравнения (n = 6 на каждом измерении, M ± m, lg КОЕ/г)			
		контрольная группа	1 опытная группа 275 мг/м ³	2 опытная группа 55 мг/м ³	3 опытная группа 27,5 мг/м ³
Бифидобактерии	фон	10,0 ± 0,11	10,7 ± 0,52	9,19 ± 0,41	9,69 ± 0,34
	после ингал.	11,1 ± 0,20	11,1 ± 0,12	11,2 ± 0,18	11,0 ± 0,15
<i>E. coli</i>	фон	7,16 ± 0,21	7,01 ± 0,36	3,39 ± 0,89**	7,42 ± 0,23
	после ингал.	6,98 ± 0,21	6,05 ± 0,25*	6,18 ± 0,13**	6,08 ± 0,28*
<i>S. aureus</i>	фон	6,13 ± 0,18	5,38 ± 0,38	5,83 ± 0,17	5,90 ± 0,16
	после ингал.	4,00 ± 0,00	4,05 ± 0,05	4,05 ± 0,05	4,23 ± 0,15
Энтерококки	фон	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00
	после ингал.	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00

Исследуемые группы микроорганизмов в микрофлоре кишечника, экспозиция измерения		Содержание микроорганизмов в группах сравнения (n = 6 на каждом измерении, M ± m, lg КОЕ/г)			
		контрольная группа	1 опытная группа 275 мг/м ³	2 опытная группа 55 мг/м ³	3 опытная группа 27,5 мг/м ³
Лактозонегативные Г-бактерии	фон	6,16 ± 0,15	6,14 ± 0,13	6,28 ± 0,16	6,42 ± 0,18
	после ингал.	5,55 ± 0,19	5,23 ± 0,29	5,56 ± 0,28	5,91 ± 0,33
Клостридии	фон	6,89 ± 0,13	7,16 ± 0,12	6,97 ± 0,34	7,29 ± 0,08*
	после ингал.	7,00 ± 0,07	6,48 ± 0,28	6,15 ± 0,19**	7,22 ± 0,16

* достоверные различия с контролем при p < 0,05 по критерию U;
** достоверные различия с контролем при p < 0,01 по критерию U.

После однократной ингаляции КГ содержание большинства изучаемых групп микроорганизмов в микрофлоре кишечника белых крыс опытных групп животных не имело существенных отличий от таковых у контрольных животных (таблица 2). Однако у животных всех опытных групп было статистически значимо по отношению к контролю снижено в микрофлоре кишечника содержание кишечной палочки, а у животных 2 опытной группы снижено и содержание клостридий (p < 0,01). Вместе с тем количество этих микроорганизмов 1 и 2 категории не выходило за пределы физиологических колебаний (± 2σ) среднegrupповых значений этих показателей у контрольных животных.

Следует отметить, что и величины относительных коэффициентов массы слепой кишки, имеющие тесную корреляционную связь с составом микрофлоры кишечника и являющегося показателем клинического проявления дисбактериоза [2], у животных всех опытных групп были существенно повышены по сравнению с контролем (таблица 3).

Таблица 3 – Величины относительного коэффициента массы слепой кишки белых крыс после острого ингаляционного действия клиндамицина гидрохлорида в 3-х изученных концентрациях

Исследуемая фармацевтическая субстанция антибиотика	ОКМск в группах сравнения			
	контрольная группа	1 опытная группа 275 мг/м ³	2 опытная группа 55 мг/м ³	3 опытная группа 27,5 мг/м ³
Клиндамицин гидрохлорид	1,30 ± 0,095	2,27 ± 0,48*	2,05 ± 0,24**	1,92 ± 0,15***

* статистическая тенденция различия с контролем при p < 0,1 по критерию t;
** достоверные различия с контролем при p < 0,05 по критерию t;
*** достоверные различия с контролем при p < 0,01 по критерию t.

Следовательно, острое ингаляционное воздействие КГ в испытанных достаточно высоких концентрациях вызывало развитие в микробиоте кишечника белых крыс дисбактериальных реакций.

В дополнительно проведенных опытах при однократном ингаляционном воздействии КГ в более низких расчетных концентрациях (в 2 и 5 раз по сравнению с минимальной ранее испытанной) установлено, что оно не вызывало существенных сдвигов величин всех изученных показателей микробиоты кишечника белых крыс 4 и 5 опытных групп как до (фон), так и после завершения воздействия по отношению к таковым в контрольной группе (таблица 4).

Таблица 4 – Количественная характеристика микрофлоры кишечника белых крыс после острого ингаляционного воздействия клиндамицина гидрохлорида в изученных низких концентрациях

Исследуемые группы микроорганизмов в микрофлоре кишечника, экспозиция измерения		Содержание микроорганизмов в группах сравнения (n = 6 на каждом измерении, M ± m, lg КОЕ/г)		
		контрольная группа	4 опытная группа КГ = 13,5 мг/м ³	5 опытная группа КГ = 5,5 мг/м ³
Бифидобактерии	фон	8,96 ± 0,11	9,08 ± 0,12	8,98 ± 0,07
	после ингал.	9,17 ± 0,13	9,12 ± 0,12	9,05 ± 0,08
<i>E. coli</i>	фон	5,91 ± 0,33	6,05 ± 0,11	6,06 ± 0,08
	после ингал.	6,25 ± 0,26	6,14 ± 0,09	6,09 ± 0,08
<i>S. aureus</i>	фон	6,13 ± 0,17	5,38 ± 0,38	5,83 ± 0,17
	после ингал.	5,12 ± 0,07	5,34 ± 0,012	5,34 ± 0,13
Энтерококки	фон	7,83 ± 0,09	7,98 ± 0,11	8,04 ± 0,26
	после ингал.	7,46 ± 0,12	7,49 ± 0,15	7,58 ± 0,08

Изучаемые группы микроорганизмов в микрофлоре кишечника, экспозиция измерения		Содержание микроорганизмов в группах сравнения (n = 6 на каждом измерении, M ± m, lg КОЕ/г)		
		контрольная группа	4 опытная группа КГ = 13,5 мг/м ³	5 опытная группа КГ = 5,5 мг/м ³
Лактозонегативные Г-бактерии	фон	7,72 ± 0,19	7,32 ± 0,11	7,93 ± 0,14
	после ингал.	6,80 ± 0,11	6,93 ± 0,17	6,98 ± 0,21
Клостридии	фон	8,01 ± 0,00	8,03 ± 0,01	8,02 ± 0,00
	после ингал.	8,00 ± 0,00	8,02 ± 0,01	8,01 ± 0,01

Острое ингаляционное воздействие КГ в низких концентрациях также не сопровождалось значимыми изменениями массы тела и относительных коэффициентов массы слепой кишки опытных животных по сравнению с контрольными белыми крысами как через сутки после завершения воздействия, так и после 6 суток восстановительного периода (таблица 5). Следовательно, данные концентрации КГ являлись недействующими по дисбиотическому действию на организм.

Таблица 5 – Влияние острого ингаляционного действия клиндамицина гидрохлорида в снижающихся концентрациях на массу тела и относительные коэффициенты массы слепой кишки белых крыс

Изучаемые показатели, единицы измерения	Время изучения, сутки	Группы сравнения, n = 6, Me (LQ–UQ)		
		контрольная группа	4 опытная группа КГ = 13,5 мг/м ³	5 опытная группа КГ = 5,5 мг/м ³
Масса тела, кг ³	Исходная	192,5 (184–202)	199,7 (190–207)	206,2 (202–209)
	1	192,5 (184–202)	199,7 (190–207)	206,2 (202–209)
	6	205 (202–208)	206,7 (200–213)	207,7 (204–216)
ОКМск	1	1,27 (0,93–1,63)	1,51 (1,16–1,88)	1,42 (1,01–1,75)
	6	1,3 (1,14–1,5)	1,23 (1,13–1,34)	1,26 (1,13–1,4)

Учитывая, что в минимальной концентрации на уровне 27,5 мг/м³ КГ еще вызывал достоверное по отношению к контролю при p < 0,05 снижение в микрофлоре кишечника опытных белых крыс содержания кишечной палочки, находящееся в пределах физиологической нормы, что характеризуется как развитие дисбактериальной реакции, то данная концентрация является пороговой острого ингаляционного дисбиотического действия КГ.

Заключение. Из представленных результатов исследований вытекают следующие выводы.

1. На основании анализа литературных источников и методических документов обоснована и апробирована рациональная методика экспериментального изучения дисбиотического действия АБЛС на примере изучения фармацевтической субстанции клиндамицина гидрохлорид, которая включает адаптированные унифицированные условия постановки эксперимента и критерии определения порога острого антимикробного действия ($Lim_{ac\ am}$) при однократном ингаляционном воздействии АБЛС на организм белых крыс.

2. В унифицированных условиях экспериментов при однократном интраназальном воздействии КГ в расчетных концентрациях на уровне 275, 55 и 27,5 мг/м³ установлено развитие в микробиоте кишечника опытных белых крыс дисбактериальных реакций, что отражалось в существенном снижении содержания кишечной палочки и значимом возрастании величины относительного коэффициента массы слепой кишки у животных опытных групп по сравнению с контролем. При снижении ингалируемой концентрации КГ до 13,5 и 5,5 мг/м³ у опытных белых крыс не выявлены статистически значимые сдвиги величин всех изученных индикаторных показателей микробиоты кишечника, массы тела и относительных коэффициентов массы слепой кишки по сравнению с контрольными животными как через сутки после воздействия, так и после 6 суток восстановительного периода. В результате обоснована пороговая концентрация острого антимикробного действия КГ ($Lim_{ac\ am}$) на уровне 27,5 мг/м³.

3. Разработан протокол исследований дисбиотического действия АБЛС и определены обязательные параметры его оценки по пороговым концентрациям острого антимикробного действия ($Lim_{ac\ am}$) и хронического дисбиотического действия ($Lim_{ch\ am}$).

Сведения о НИР. НИР «Разработать метод гигиенического нормирования антибактериальных лекарственных средств в воздухе рабочей зоны» подпрограммы «Безопасность среды обитания человека» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», 2021–2025 гг., регистрационный номер 20221232.

Литература

1. Обоснование предельно допустимых концентраций и методик выполнения измерений содержания в воздухе рабочей зоны микроорганизмов-продуцентов и микробных препаратов на их основе : инструкция по применению № 009-1015 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 16.10.2015 / Респ. унитар. предприятие «Научно-практический центр гигиены» ; В. В. Шевляков, В. А. Филонюк, Н. В. Дудчик [и др.]. – Минск, 2015. – 28 с.
2. Постановка исследований для обоснования предельно допустимых концентраций антибиотиков в воздухе рабочей зоны : метод. указания № 5051-89 / М-во здравоохранения СССР, Гл. санитарно-профилактич. упр. – М., 1989. – 22 с.
3. Дудчик, Н. В. Прокариотические тест-модели для оценки биологического действия и гигиенической регламентации факторов среды обитания : дис. ... докт. биол. наук : 14.02.01 / Дудчик Наталья Владимировна ; Респ. унитар. предприятие «Научно-практический центр гигиены». – Минск, 2016. – 409 л.
4. Филонюк, В. А. Методология гигиенического регламентирования микробных препаратов и разработки методик выполнения измерений содержания микроорганизмов в воздухе рабочей зоны / В. А. Филонюк, В. В. Шевляков, Н. В. Дудчик ; М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Респ. унитар. предприятие «Научно-практический центр гигиены». – Минск : БелНИИТ «Транстехника», 2018. – 264 с.
5. Методы экспериментального определения дисбиотического действия микроорганизмов-продуцентов и биотехнологических препаратов на их основе : инструкция по применению № 008-0914 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 09.09.2014 / Респ. унитар. предприятие «Научно-практический центр гигиены» ; Н. В. Дудчик, В. А. Филонюк, В. В. Шевляков [и др.]. – Минск, 2014. – 15 с.

*Zemtsova V. O., Bogdanov R. V., Shevlyakov V. V., Filonyuk V. A.¹,
Yemelyanova O. A., Chernyshova E. V., Baranov S. A., Silich A. I.*

JUSTIFICATION AND TESTING OF METHODOLOGICAL APPROACHES TO EXPERIMENTAL EVALUATION OF ACUTE DYSBIOTIC EFFECT OF ANTIBACTERIAL DRUGS

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

¹ Educational Institution «Belarusian state medical University», Minsk, Belarus

Assessment of harmful antimicrobial effect of antibacterial drugs (hereinafter – ABD) on the organism is a mandatory stage of hygienic standardization of their content in the air of the working zone. The above-mentioned determined the relevance of substantiation of modern methods of experimental determination and criteria for assessing the dysbiotic effect of ABD in the inhalation route of entry into the body. Approbation of these methods was carried out on the example of studying the pharmaceutical substance of antibiotic clindamycin hydrochloride (hereinafter – CH).

The rational methodology of experimental study of dysbiotic effect of ABD is substantiated and tested on the basis of the analysis of literature sources and methodological documents. This methodology includes adapted unified conditions for setting up the experiment and criteria for determining the threshold of acute antimicrobial action ($Lim_{ac\ am}$) during a single inhalation exposure of ABD on the body of white rats.

Approbation allowed to establish the development of dysbacterial reactions in the intestinal microbiota of experimental white rats in experiments with a single intranasal exposure to CH at concentrations of 275, 55 and 27.5 mg/m³. This was reflected in a significant decrease in the content of *Escherichia coli* and a significant increase in the value of the relative mass ratio of the blind intestine (hereinafter – RMCc) in animals of the experimental groups compared to the control. At reduction of inhaled concentration of CH to 13.5 and 5.5 mg/m³ in experimental white rats no statistically significant shifts of values of all studied indicator indicators of intestinal microbiota, body weight and RMCc were revealed in comparison with control animals after exposure and after 6 days of recovery period. As a result, the threshold concentration of acute antimicrobial effect of CH ($Lim_{ac\ am}$) at the level of 27.5 mg/m³ was justified.

Keywords: antibacterial drugs, pharmaceutical substance of the antibiotic clindamycin hydrochloride, method of experimental determination and assessment of acute inhalation dysbiotic effect.

References

1. Shevlyakov V. V., Filonyuk V. A., Dudchik N. V. et al. Justification of maximum permissible concentrations and methods for measuring the content of producing microorganisms and microbial preparations based on them in the air of the working area: instrukciya po primeneniyu No. 009-1015. Ministry of Health of the Republic of Belarus 16.10.2015. Minsk; 2015. 30 p. (in Russian).

2. Study design for justification maximum allowable concentrations antibiotics in the air of the work area: method. instructions No. 5051-89. Ministry of Health of the USSR., main sanitary and preventive department. Moscow; 1989. 22 p. (in Russian)

3. Dudchik N. V. Prokaryotic test models for assessing the biological effects and hygienic regulation of environmental factors: diss. ... doc. biol. sciences: 14.02.01. Minsk; 2016. 409 p. (in Russian)

4. Filonyuk V. A., Shevlyakov V. V., Dudchik N. V. *Metodologiya gigienicheskogo reglamentirovaniya mikrobnih preparatov i razrabotki metodik vypolneniya izmerenij sodержaniya mikroorganizmov v vozduhe rabochej zony* [Methodology of hygienic regulation of microbial preparations and development of methods for measuring the content of microorganisms in the air of the working area]. Minsk, BelNIIT «Transtehnika»; 2018. 264 p. (in Russian)

5. Dudchik N. V., Filonyuk V. A., Shevlyakov V. V. Methods for experimental determination of the dysbiotic effect of producing microorganisms and biotechnological preparations based on them: instrukcija po primeneniyu No. 008-0914. Ministry of Health of the Republic of Belarus 09.09.2014. Minsk; 2014. 15 p. (in Russian)

e-mail для переписки: veto4ka1710@rambler.ru

Поступила 07.10.2024

УДК 632.95-026.86:633.71

Ильюкова И. И., Юркевич Е. С., Жмакова Н. А.¹

ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА ИНСЕКТИЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ ИЗ ОТХОДОВ ТАБАЧНОЙ ПЫЛИ ПРИ ОДНОКРАТНОМ И ПОВТОРНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

¹ Государственное научное учреждение «Институт природопользования Национальной академии наук Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. В проведенном исследовании представлены результаты токсикологических экспериментов по изучению острой токсичности при различных путях поступления (внутрижелудочном, накожном, ингаляционном), острого раздражающего действие (на кожу и слизистые); сенсибилизирующего и кумулятивного действия на лабораторных животных (белые крысы, белые мыши, кролики-альбиносы) нового препарата инсектицидного действия на основе табачной пыли, представляющего собой продукт окислительно-гидролитической деструкции отхода табачного производства – табачной пыли, разработанного ГНУ «Институт природопользования Национальной академии наук Беларуси». Результаты проведенных исследований позволили отнести исследуемый препарат по параметрам острой пероральной, эпикутанной и ингаляционной токсичности, однократному воздействию на кожные покровы и слизистые оболочки, кожно-резорбтивному, сенсибилизирующему и кумулятивному действию к малоопасным веществам [1].

Ключевые слова: инсектицид, табачная пыль, токсикологические исследования, опасные свойства, класс опасности.

Введение. Современный ассортимент применяемых инсектицидов, доля которых на мировом рынке средств защиты растений составляет не менее 25 %, характеризуется появлением новых групп препаратов биогенного происхождения – аналогов природных соединений, содержащихся в живых организмах (биологические пестициды) и биологически активных соединений, регулирующих развитие вредных организмов (аттрактанты, феромоны, ювеноиды, хемостерильянты, антифиданты) [2]. При попадании в биоценоз инсектициды взаимодействуют практически со всеми растениями, насекомыми, микрофлорой, земноводными. В процессе продвижения по трофическим путям химические препараты попадают в водоемы, накапливаются в животных и птицах [3].

Актуальной является разработка более действенных и менее экологически опасных препаратов, которые позволяют минимизировать негативное влияние на здоровье населения и объекты среды обитания и выступают в качестве основы для производства безопасных пищевых продуктов. К примеру,

для применения в личных подсобных хозяйствах предложен ряд препаратов на основе табачной пыли, предназначенных для применения на огороде и в садах в качестве удобрения и препаратов инсектицидного действия для борьбы с сосущими и листогрызущими насекомыми вредителями – тли различного типа, трипсы, листогрызущие насекомые, гусеницы, листовертки, летающие вредители, паутинный клещ с целью защиты от вредителей плодовых, ягодных и цветочно-декоративных культур [1].

Применение табачной пыли в качестве удобрения оправдано ее составом: примерно 2–5 % азота, 1–3 % калия, 1–2 % фосфора, что улучшает питание растений, повышает микробиологическую активность почвы, качество продукции и урожайность плодово-ягодных культур и овощей по некоторым данным до 40 %.

Для предупреждения неблагоприятных последствий при обращении новых видов средств защиты растений, научного обоснования рисков в условиях реального применения и разработки мер по безопасному обращению необходимо проводить токсикологические исследования на теплокровных с целью выявления их токсикологических свойств и токсикометрических параметров.

Наличие достоверной, полученной в экспериментальных исследованиях, информации о токсикологических свойствах и токсикологических параметрах позволяет оценить риски неблагоприятных последствий при обращении новых видов средств защиты растений [4–7].

Цель работы – провести токсикологические исследования и оценить комплексный риск воздействия нового препарата инсектицидного действия на основе табачной пыли с целью определения способности накапливаться в организме и оказывать неблагоприятное воздействие на функциональное состояние органов и систем подопытных животных.

Материалы и методы. Первичная токсикологическая оценка нового биологически активного препарата инсектицидного действия, содержащего в качестве действующего вещества не менее 1,6 г/л никотина, полученного из неиспользуемых отходов табачного производства, выполнена на трех видах лабораторных животных – нелинейные белые крысы, белые мыши и кролики-альбиносы. Для токсикологических исследований использовали препарат в виде 50%-й водной взвеси. Исследования проведены в соответствии с действующими техническими нормативными правовыми актами, регламентирующими подобного вида исследования [8–9].

При изучении острой токсичности при пероральном введении препарат вводили однократно внутривенно белым крысам в объеме 3 мл / 200 г; испытаны дозы: 2500,0; 3160,0; 3980,0; 5010,0 мг/кг. Время наблюдения 14 суток. Учитывали характер симптомов интоксикации и поведение животных [8].

Эксперимент по изучению острой токсичности при однократном эпикутанном нанесении проведен согласно Инструкции по применению № 048-1215 с использованием половозрелых белых крыс (самцы), массой 200–260 г. Препарат наносили однократно на выстриженные участки кожи спины белых крыс, размером 4 × 5 см, фиксировали марлевой повязкой и лейкопластырем, животных помещали в индивидуальные домики, длительность контакта составляла 24 часа. В опыте испытаны следующие дозы препарата – 2000; 3000; 5000 мг/кг, количество животных в группе – по 5 особей. Время наблюдения 14 суток. Учитывали характер симптомов интоксикации и поведение животных [9].

При изучении местнораздражающих свойств при однократном воздействии на неповрежденные кожные покровы исследуемый образец наносили на лишенную шерстного покрова кожу спины белых крыс со стороны правого бока, площадью 4 × 4 см (левый бок служил контролем), в объеме 0,32 мл / 16 см² при однократных 4-часовых аппликациях (Инструкция 1.1.11-12-35-2004, глава 6) [8].

Кожно-резорбтивное действие изучали «пробирочным» методом при однократных и повторных погружениях $\frac{2}{3}$ поверхности кожи хвостов белых крыс в препарат, контрольных животных погружали в индифферентный раствор. В процессе эксперимента учитывали смертельные эффекты (при наличии), клинические симптомы интоксикации и признаки раздражения кожи хвостов [8].

Раздражающее действие препарата на слизистые оболочки глаз изучали при однократном воздействии (Инструкция 1.1.11-12-35-2004, глава 5). Образец вносили в количестве 50–100 мкл в нижний конъюнктивальный свод правого глаза кроликов породы шиншилла с последующим (через 24 часа) промыванием дистиллированной водой; левый глаз при этом служил в качестве контрольного, в который закапывали 1-2 капли дистиллированной воды [8].

Изучение сенсibilизирующего действия и иммунотоксичности проводили в тесте опухания лапы мыши (далее – ТОЛМ) путем внутрикожного введения в основание хвоста белых мышей в дозах $\frac{1}{100}$, $\frac{1}{20}$ и $\frac{1}{10}$ (Инструкция 1.1.11-12-35-2004, приложение 9). Учитывали развитие отечно-пролиферативной реакции; выраженность реакции оценивали по абсолютному (мм) и относительному (в баллах) показателям [8].

Кумулятивные свойства изучали методом Ю. С. Кагана и В. В. Станкевича (1964), позволяющим в течение 1 месяца (при введении по 5 раз в неделю) рассчитать коэффициент кумуляции (по смертельным эффектам) и в динамике проследить изменения, возникающие в органах и системах организма животного в ответ на действие токсиканта. В опытах использованы рандомизированные белые крысы (самцы) массой 163–200 г, возраст 8–12 недель, собственного разведения. Общее число использованных животных – 14 (по 7 самцов в тестовых и контрольной группах). Образец внутрижелудочно вводили с помощью иглы-зонда (20-кратно) в дозе, составляющей $1/10$, $1/20$ и $1/50$ от DL_{50} установленной в остром опыте, и не вызывающей смертельных эффектов (объем вводимой жидкости – 3,0 мл / 200 г). Животные контрольной группы получали дистиллированную воду в эквивалентных объемах [8].

Обращение с животными при подготовке и проведении экспериментов осуществляли в соответствии с основными этическими принципами надлежащей лабораторной практики [9].

Для оценки биологических эффектов у животных подопытных групп использовали комплекс интегральных и специфических показателей.

Гематологические показатели регистрировали в конце эксперимента в цельной крови животных с использованием гематологического анализатора «Mythic18» (Швейцария). Исследовали следующие параметры: концентрация эритроцитов, тромбоцитов, лейкоцитов, гемоглобина, лимфоцитов, моноцитов, гранулоцитов, гематокрита, средний объем эритроцитов.

Биохимические показатели крови определяли с помощью автоматического биохимического анализатора Accent200, Cormay (Польша) с использованием диагностических наборов. Исследовали следующие параметры: глюкоза, мочевины, креатинин, общий белок, аланинаминотрансфераза, аспаратаминотрансфераза.

Общий анализ мочи включал следующий список исследованных параметров: глюкоза, мочевины, креатинин, суточный диурез, pH, общий белок, удельный вес.

Все крысы, участвовавшие в эксперименте, по окончании введения исследуемого вещества были умерщвлены и подвергнуты полной, детальной некропсии. Макроскопические изменения, если таковые имелись, были записаны. Были определены относительные коэффициенты массы (далее – ОКМ) ряда внутренних органов.

Результаты исследований подвергли статистической обработке общепринятыми методами. При оценке различий между группами использовали непараметрический U-критерий Манна – Уитни с использованием программ Microsoft Excel и Statistica 13. Количественные параметры представлены в виде медианы (далее – Me) и интерквартильного размаха (далее – 25%; 75%). Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез был принят $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Однократное внутрижелудочное введение изучаемого препарата гибели животных и клинических симптомов интоксикации не обнаружено. DL_{50} составила более 5000 мг/кг, следовательно, по параметрам острой внутрижелудочной токсичности новый препарат инсектицидного действия относится к малоопасным веществам (4 класс опасности согласно ГОСТ 12.1.007-76 / 5 класс по ГОСТ 32425-2013) [11–12].

При однократном накожном воздействии динамика массы тела белых крыс опытной группы не отличалась от контроля, гибели животных и клинических симптомов интоксикации не отмечено. DL_{50} составляет более 5000 мг/кг, по параметрам острой накожной токсичности препарат следует характеризовать как умеренно опасное химическое соединение, 4 класс опасности [11–12].

В результате изучения местнораздражающих свойств при однократном воздействии на неповрежденные кожные покровы белых крыс установлено, что исследуемый образец не обладает раздражающим действием на кожные покровы со средним суммарным баллом выраженности отека и эритемы – 0 и относится к малоопасным веществам (4 класс, отсутствие раздражающего действия) [1, 8].

На основании исследований по определению кожно-резорбтивного действия установлено, что в условиях однократного воздействия на $2/3$ поверхности кожи хвостов белых крыс препарат инсектицидного действия не обладает местно-резорбтивным действием на кожные покровы (отсутствие эритемы, отека) и относится к малоопасным веществам (0 класс, отсутствие раздражающего действия) [8].

Внесение 50–100 мкл исследуемого образца в нижний конъюнктивальный свод глаз кроликов-альбиносов (3 особи) после инстилляции вызывает рефлекторный блефароспазм и слабое слезотечение, которые проходили в течение 10–30 минут без промывания; средний суммарный балл выраженности

ирритативного действия – 1,0. Следовательно, в условиях однократного воздействия на слизистые оболочки исследуемый образец нового препарата инсектицидного действия обладает слабым раздражающим действием на слизистые оболочки глаз экспериментальных животных (3 класс опасности (подкласс 3В), слабое раздражающее действие) [1, 8].

Повторные аппликации препарата на поверхности $2/3$ кожи хвостов белых крыс вызывали нарастающую по мере продолжительности воздействия незначительную гиперемию кожных покровов (воздействия препарата (до 2 баллов), при этом объем хвостов опытной группы животных, некоторые физиологические (частота сердечных сокращений, суммационно-пороговый показатель, масса тела) на протяжении эксперимента статистически значимо не изменялись, поведение подопытных животных не отличалось от контроля, видимых симптомов интоксикации и гибели животных не отмечено, поведение подопытных животных не отличалось от контроля. На основании исследований установлено, что исследуемый образец обладает слабовыраженным кожно-резорбтивным действием (эритема розового цвета, до 2 баллов) и классифицируется как вещество со слабовыраженным раздражающим действием [8].

В результате эксперимента по изучению сенсibiliзирующего действия и иммунотоксичности установлено, что новый препарат инсектицидного действия не вызывает уплотнения и воспаления ткани, что позволяет отнести его к веществам, не оказывающим сенсibiliзирующего действия (4 класс, отсутствие сенсibiliзирующего эффекта (в рамках стандартного протокола исследований) [1, 8].

При изучении кумулятивного действия в течение всего периода исследования отмечен прирост массы тела животных тестовых групп и к концу исследования масса тела животных статистически значимо отличалась от показателей контрольной группы, и имела общую тенденцию во всех тестовых группах, и прирастала примерно одинаково, в среднем на 25–40 г на животное.

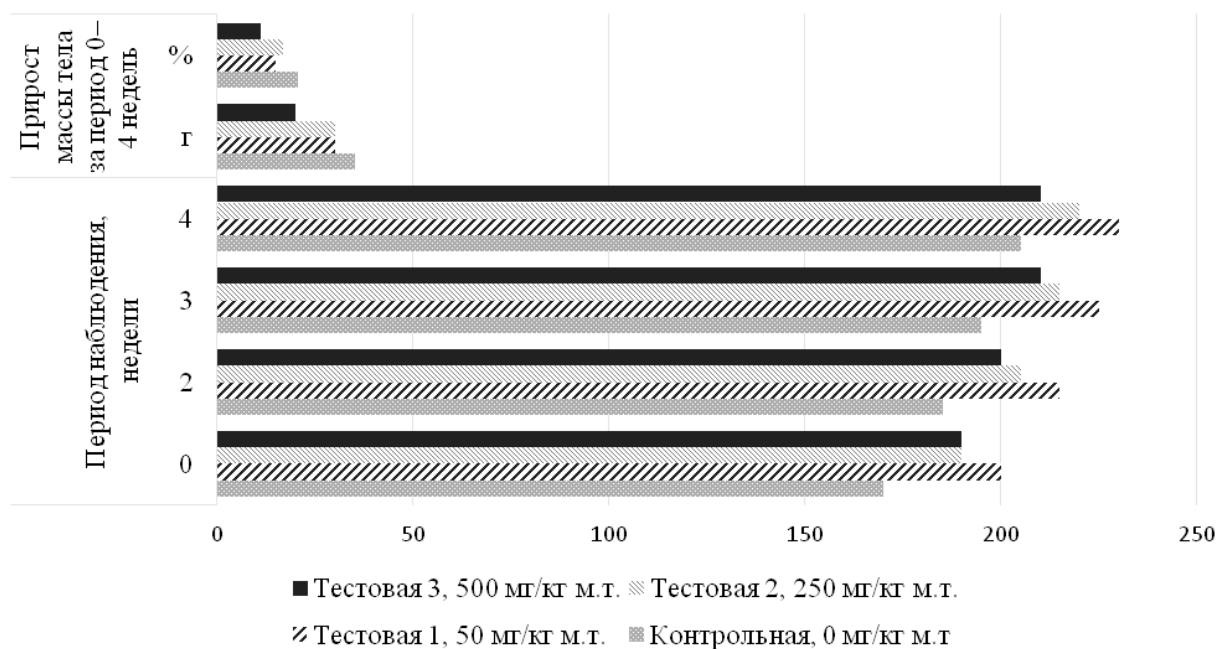


Рисунок 1 – Динамика изменения массы тела крыс при повторном воздействии в течение 30 дней образца нового препарата инсектицидного действия, данные по группе (Me (25%; 75%), n = 7)

Определение суммационно-порогового показателя до начала воздействия исследуемого образца нового препарата инсектицидного действия и по окончании периода введения установило статистически значимое увеличение способности к суммации подпороговых электрических импульсов у животных тестовой группы 3 по сравнению с показателем контрольной группы.

По окончании эксперимента у животных тестовой группы 3 отмечено изменение красного роста периферической крови, связанное с устойчивой тенденцией снижения эритроцитов и, как следствие, статистически значимого снижения уровней гемоглобина на 11,8 % и гематокрита 9,7 %, а также

снижение уровня лимфоцитов на 15,2 % и повышение уровня гранулоцитов на 49,8 %. Остальные показатели периферической крови, выбранные в качестве тестовых для всех опытных групп, находились в диапазоне физиологической нормы и не отличались от показателей животных контрольной группы (различия были статистически не значимы). Данные представлены на рисунке 2.

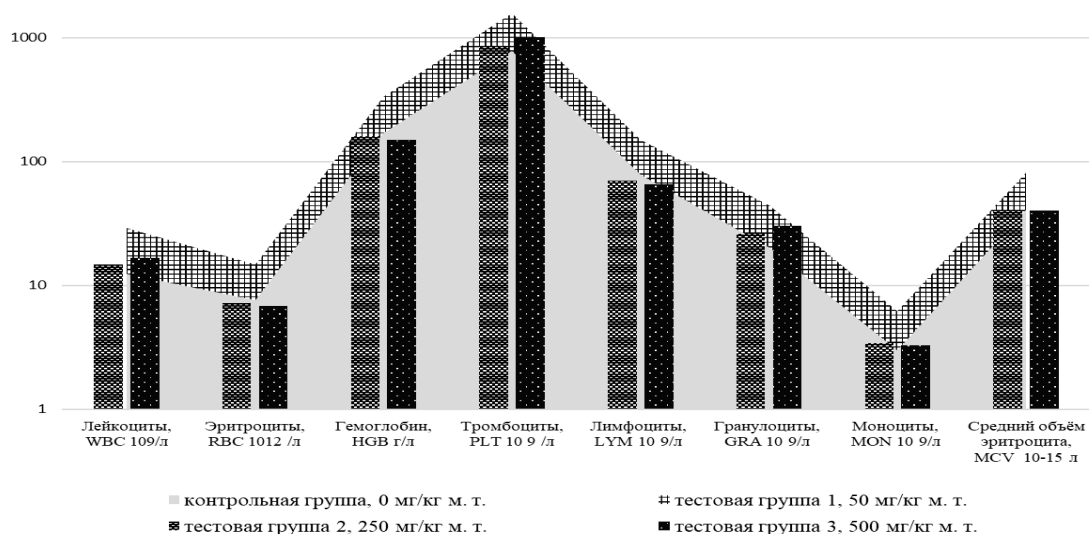


Рисунок 2 – Гематологические показатели крыс при повторном воздействии в течение 30 дней образцов нового препарата инсектицидного действия, данные по группам, n = 7

У животных тестовой группы 3 по окончании эксперимента отмечено статистически значимое увеличение АлАТ на 72,8 %, а в тестовой группе 1 у животных зафиксировано увеличение уровня глюкозы на 5,9 %, при этом остальные изучаемые биохимические показатели сыворотки крови опытных животных не отличались от таковых у контрольной группы (таблица 1).

Таблица 1 – Биохимические показатели сыворотки крови крыс при воздействии в течение 30 дней образцов нового препарата инсектицидного действия, n = 7

Показатель, единицы измерения	Группы сравнения, величины вводимых доз			
	контрольная группа, 0 мг/кг м. т.	тестовая группа 1, 50 мг/кг м. т.	тестовая группа 2, 250 мг/кг м. т.	тестовая группа 3, 500 мг/кг м. т.
АлАТ, Ед/л	93,10 ± 13,59	121,00 ± 16,24 p = 0,31	85,40 ± 10,16 p = 0,31	160,90 ± 8,68 p = 0,02*
АсАТ, Ед/л	403,30 ± 38,21 (348,50; 648,80)	412,20 ± 21,80 (348,30; 508,30) p = 1,00	473,00 ± 39,93 (362,90; 659,70) p = 0,30	605,20 ± 75,54 (267,00; 816,10) p = 0,37
Общий белок, г/л	84,40 ± 0,86 (80,90; 88,40)	86,20 ± 1,27 (80,20; 89,20) p = 0,79	86,7 ± 0,97 (83,60; 90,80) p = 0,33	85,60 ± 1,92 (76,80; 91,70) p = 0,56
Мочевина, ммоль/л	104,95 ± 3,64 (85,49; 115,59)	110,51 ± 6,76 (76,42; 134,23) p = 0,20	95,96 ± 3,40 (89,41; 113,53) p = 0,43	94,07 ± 2,92 (81,74; 102,83) p = 0,12
Креатинин, мкмоль/л	44,02 ± 1,07 (40,87; 49,17)	44,27 ± 1,30 (40,25; 50,36) p = 0,89	45,02 ± 1,69 (41,78; 54,38) p = 0,44	43,44 ± 1,44 (39,11; 48,73) p = 0,89
Глюкоза, ммоль/л	7,04 ± 0,23 (6,36; 8,31)	7,46 ± 0,20 (7,17; 8,64) p = 0,03*	7,71 ± 0,29 (6,74; 8,76) p = 0,44	7,33 ± 0,34 (6,95; 9,59) p = 0,13

* различия статистически значимы относительно контрольной группы, p < 0,05.

В моче животных, подвергавшихся воздействию препарата, не установлено статистически значимых изменений уровня общего белка, мочевины, креатинина, глюкозы, суточного диуреза, удельного веса и величины рН в сравнении с контролем.

По окончании эксперимента проведена эвтаназия всех животных с последующей макроскопией и определением относительной массы внутренних органов (ОКМ). У животных тестовой группы 1 отмечено статистически значимое увеличение ОКМ печени на 12,5 %, почек на 18,6 %, надпочечников на 47,4 % и массы животного на 12,2 %; в тестовой группе 2 – увеличение ОКМ печени, почек, надпочечников и массы тела на 23,7, 10,9, 42,1 и 7,3 % соответственно; в тестовой группе 3 – увеличение ОКМ почек, селезенки, надпочечников на 12,5, 47,8, 31,6 % соответственно. Значения показателей других внутренних органов тестируемых животных не отличались от таковых в сравнении с контрольной группой. Данные представлены на рисунке 3.

При макроскопическом патоморфологическом обследовании внутренних органов изменений не выявлено.

Следовательно, в принятых условиях повторного 30-суточного внутрижелудочного введения белым крысам новый препарат инсектицидного действия не проявляет кумулятивной активности на уровне смертельных эффектов ($K_{\text{кумулятив}} > 5,0$) [1, 8]. Общетоксический характер действия характеризуется увеличением способности животных к суммации подпороговых электрических импульсов у животных тестовой группы 3, связанной, вероятнее всего, с характерным для никотинсодержащих продуктов снижением ацетилхолинэстеразы, участвующей в передаче нервных импульсов путем расщепления ацетилхолина, что приводит к накоплению ацетилхолина в нервных окончаниях и ведет к сверхраздражению нервных клеток.

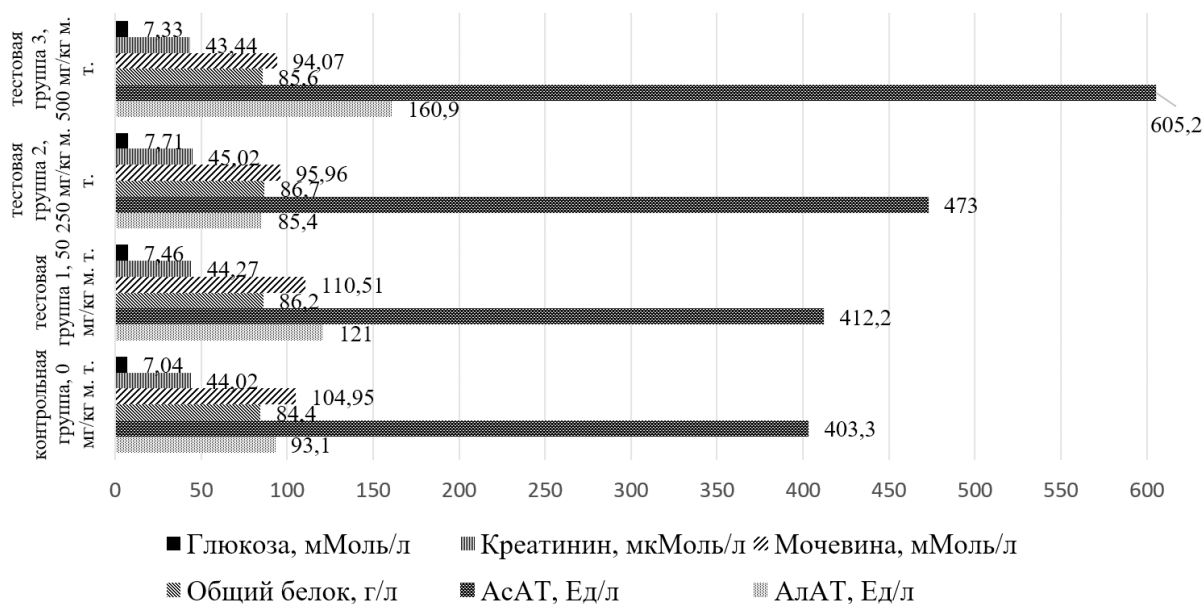


Рисунок 3 – Относительная масса внутренних органов белых крыс при повторном воздействии в течение 30 дней нового препарата инсектицидного действия, данные по группам, n = 7

Также по окончании эксперимента у животных тестовой группы 3 отмечено влияние препарата на зрелые ростки в красном костном – эритроцитарный (снижение эритроцитов и, как следствие, статистически значимое снижение уровней гемоглобина и гематокрита), гранулоцитарный (повышение уровня гранулоцитов) и лимфоцитарный (снижение уровня лимфоцитов), увеличение АлАТ в сыворотке крови, а тестовой группе 1 у животных зафиксировано увеличение уровня глюкозы.

Анализ полученных данных показал, что исследуемый образец в максимальной концентрации ($1/_{10} DL_{50}$) обладает слабовыраженными кумулятивными свойствами на уровне функциональных эффектов, которые носят компенсаторно-приспособительный характер, проходящий в течение 14 дней после прекращения воздействия.

На основании проведенных исследований дана токсикологическая характеристика нового биологически активного препарата инсектицидного действия, содержащего в качестве действующего вещества не менее 1,6 г/л никотина (таблица 2).

Таблица 2 – Токсикологические эффекты препарата инсектицидного действия (никотин, не менее 1,6 г/л)

Наименование исследований	Объект исследований	Полученный результат
Острая пероральная токсичность, DL ₅₀ мг/кг м. т.	Белые крысы	более 5 000 малоопасное вещество (4 класс опасности согласно ГОСТ 12.1.007-76 / 5 класс по ГОСТ 32419-2013)
Острая кожная токсичность, DL ₅₀ мг/кг м. т.	Белые крысы	более 5 000 малоопасное вещество (4 класс опасности согласно ГОСТ 12.1.007-76 / 5 класс по ГОСТ 32419-2013)
Кожно-резорбтивное действие – однократно – повторно	Белые крысы	отсутствие раздражающего действия (Приложение 6, Инструкция 1.1.11-12-35-2004) слабое раздражающее действие (Приложение 6, Инструкция 1.1.11-12-35-2004)
Раздражающее действие на кожу	Белые крысы	отсутствие раздражающего действия (4 класс опасности, ЕСТ, Глава II; Раздел 15)
Раздражающее действие на слизистые глаз	Кролики-альбиносы	слабое раздражающее действие (3В класс опасности, ЕСТ, Глава II; Раздел 15)
Сенсибилизирующее действие	Белые мыши	отсутствие сенсибилизирующего эффекта (в рамках стандартного протокола исследований) (4 класс опасности, ЕСТ, Глава II; Раздел 15)
Кумулятивное действие	Крысы	Гибели не отмечено ($K_{кум} > 5,0$) обладает слабовыраженными кумулятивными свойствами на уровне функциональных эффектов компенсаторно-приспособительного характера (4 класс опасности, ЕСТ, Глава II; Раздел 15)
Органотоксичность (поражаемые органы и ткани)	Грызуны	органы дыхания, слизистые оболочки

Заключение. В результате проведенных исследований нового препарата инсектицидного действия на основе табачной пыли, содержащего в качестве действующего вещества не менее 1,6 г/л никотина, установлено, что при однократном пероральном, эпикутанном воздействии препарат относится к малоопасным веществам, не обладает сенсибилизирующим и раздражающим/разъедающим действием на кожные покровы, оказывает слабое ирритативное действие. Однако при повторном эпикутанном воздействии и внутрижелудочном введении в максимальной концентрации ($1/_{10} DL_{50}$) установлена способность накапливаться в организме и оказывать некоторое неблагоприятное воздействие на функциональное состояние органов и систем подопытных животных, которое проявляется влиянием на нервную систему (увеличением способности животных к суммации подпороговых электрических импульсов), гематологические показатели красной крови (снижение эритроцитов, гемоглобина, гематокрита), биохимические показатели сыворотки (увеличение АлАТ, глюкозы), связанные, вероятнее всего, с токсическим действием никотина. Тем не менее, при предлагаемых регламентах содержания никотина, для разработанного препарата инсектицидного действия на основе табачной пыли увеличение реальной опасности комплексного вредного воздействия на население маловероятно.

Сведения о НИР. Мероприятие № 14 «Разработать и внедрить технологию получения биологически активного препарата инсектицидного действия на основе неиспользуемых отходов табачного производства, провести его регистрационные испытания на отдельных сельскохозяйственных культурах» Государственной программы «Наукоемкие технологии и техника» на 2021–2025 годы», подпрограмма 4 «Инновационные продукты на основе минерального и органического сырья», регистрационный номер 20220076.

Литература

1. Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенических требования к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю) : утв. решением Комис. тамож. союза от 28 мая 2010 г. № 29 : в ред. решений Комиссии Тамож. союза от 17 авг. 2010 г. № 341, от 18 нояб. 2010 г. № 456,

от 02 марта 2011 г. № 571, от 07 апр. 2011 г. № 622, от 18 окт. 2011 г. № 829, от 09 дек. 2011 г. № 889, решений Коллегии Евраз. эконом. комиссии от 19 апр. 2012 г. № 34, от 16 авг. 2012 г. № 125, от 06 нояб. 2012 г. № 208, от 15 янв. 2013 г. № 6, от 10 нояб. 2015 г. № 149, от 06 авг. 2019 г. № 132. – URL: http://www.eurasiancommission.org/ru/act/texnreg/depsanmer/sanmeri/Pages/P2_299.aspx (дата обращения: 18.09.2024).

2. Страновой обзор производства и использования особо опасных пестицидов в России / International Pollutants Elimination Network. – М. : Центр «Эко-Согласие», 2020. – 44 с. – URL: https://ipen.org/sites/default/files/documents/final_russia_hhp_country_situation_report_ru_and_en_14_may_2020.pdf (дата обращения: 18.09.2024).

3. Pesticide residues in food and drinking water – human exposure and risks / ed.: D. Hamilton, S. Crossley. – Chichester : John Wiley & Sons, 2004. – 384 p.

4. Требования к применению, условиям перевозки и хранения пестицидов (средства защиты растений), агрохимикатов и минеральных удобрений : санитар. нормы и правила : утв. постановлением М-ва здравоохранения Респ. Беларусь от 27 сент. 2012 г. № 149 // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь. – URL: http://www.pravo.by/upload/docs/op/W21226455p_1352235600.pdf (дата доступа: 17.09.2024).

5. Гигиенические нормативы содержания действующих веществ пестицидов (средств защиты растений) в объектах окружающей среды, продовольственном сырье, пищевых продуктах : гигиен. норматив : утв. постановлением М-ва здравоохранения Респ. Беларусь от 27 сент. 2012 г. № 149 // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь. – URL: <https://pravo.by/document/?guid=12551&p0=W21226455p&p1=1> (дата доступа: 16.09.2024).

6. Об утверждении гигиенических нормативов : постановление Совета Министров Респ. Беларусь от 25 янв. 2021 г. № 37 // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь. – URL: <https://pravo.by/document/?guid=12551&p0=C22100037&p1=1> (дата обращения: 16.09.2024).

7. Государственный реестр средств защиты растений и удобрений, разрешенных к применению на территории Республики Беларусь. – URL: <https://ggiskzr.by/reestr/> (дата обращения: 28.09.2024).

8. Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ : инструкция по применению № 1.1.11-12-35-2004 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 14.12.2004. – Минск, 2004. – 42 с.

9. Определение острой токсичности химической продукции (химических веществ и их смесей) при накожном поступлении : инструкция по применению № 048-1215 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 30.08.2016 / Респ. унитар. предприятие «Научно-практический центр гигиены» ; Е. С. Юркевич, И. И. Ильюкова, О. А. Борис, А. А. Попель. – Минск, 2015. – 37 с.

10. Надлежащая лабораторная практика: ТКП 125–2008 (02040). – Введ. 28.03.2008. – Минск : М-во здравоохранения Респ. Беларусь, 2008. – 35 с.

11. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности : ГОСТ 12.1.007-76. – Введ. 01.01.77. – М. : Стандартиформ, 2007. – 5 с.

12. ГОСТ 32425-2013. Классификация опасности смесевой химической продукции по воздействию на окружающую среду. – Введ. 01.08.2024. – М. : Стандартиформ, 2019. – 10 с.

Ilyukova I. I., Yurkevich E. S., Zhmakova N. A. ¹

STUDY OF TOXIC PROPERTIES OF INSECTICIDAL PREPARATION FROM TOBACCO DUST WASTE AT SINGLE AND REPEATED EXPOSURE

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

¹ State Scientific Institution «Institute of Nature Management of the National Academy of Sciences of Belarus», Minsk, Belarus

The study presents the results of toxicological experiments on the study of acute toxicity at different routes of entry (intra-gastric, percutaneous, inhalation), acute irritant action (on the skin and mucous membranes); sensitizing and cumulative effect on laboratory animals (white rats, white mice, albino rabbits) of a new preparation of insecticidal action on the basis of tobacco dust, which is a product of oxidative-hydrolytic destruction of tobacco production waste – tobacco dust, developed by the Institute of Nature Management of the National Academy of Sciences of Belarus. The results of the conducted studies allowed to attribute the investigated preparation according to the parameters of acute oral, epicutaneous

and inhalation toxicity, single exposure to skin and mucous membranes, skin-resorptive, sensitizing and cumulative action to low-hazardous substances.

Keywords: insecticide, tobacco dust, toxicological studies, toxicity parameters, hazardous properties, hazard class.

References

1. Unified sanitary-epidemiological and hygienic requirements for products (goods) subject to sanitary-epidemiological supervision (control): Utv. Resheniem Komis. tamozh. soyuza ot 28 maya 2010 g. № 29 v red. reshenij Komissii Tamozh. soyuza ot 17 avg. 2010 g. № 341, ot 18 noyab. 2010 g. № 456, ot 02 marta 2011 g. № 571, ot 07 apr. 2011 g. № 622, ot 18 okt. 2011 g. № 829, ot 09 dek. 2011 g. № 889, reshenij Kollegii Evraz. ekonom. komissii ot 19 apr. 2012 g. № 34, ot 16 avg. 2012 g. № 125, ot 06 noyab. 2012 g. № 208, ot 15 yanv. 2013 g. № 6, ot 10 noyab. 2015 g. № 149, ot 06 avg. 2019 g. № 132. Available at: http://www.eurasiancommission.org/ru/act/texnreg/depsanmer/sanmeri/Pages/P2_299.aspx (accessed 18 September 2024). (in Russian)

2. Country review of production and use of highly hazardous pesticides in Russia. Moscow: Centr «Eko-Soglasie»; 2020. Available at: https://ipen.org/sites/default/files/documents/final_russia_hhp_country_situation_report_ru_and_en_14_may_2020.pdf (accessed 18 September 2024). (in Russian)

3. Hamilton D., Crossley S., eds. Responsible residues in food and drinking water. Chichester: John Wiley & Sons; 2004.

4. Requirements for the use, conditions of transportation and storage of pesticides (plant protection products), agrochemicals and mineral fertilizers: Sanitar. normy i pravila: Utv. postanovleniem M-va zdavoohraneniya Resp. Belarus' ot 27 sent. 2012 g. № 149. Available at: http://www.pravo.by/upload/docs/op/W21226455p_1352235600.pdf (accessed 17 September 2024). (in Russian)

5. Hygienic standards for the content of active substances of pesticides (plant protection products) in environmental objects, food raw materials, foodstuffs: gigen. normativ: utv. postanovleniem M-va zdavoohraneniya Resp. Belarus' ot 27 sent. 2012 g. № 149. Available at: <https://pravo.by/document/?guid=12551&p0=W21226455p&p1=1> (accessed 16 September 2024). (In Russian)

6. On approval of hygienic standards: postanovlenie Soveta Ministrov Resp. Belarus' ot 25 yanv. 2021 g. № 37. Available at: <https://pravo.by/document/?guid=12551&p0=C22100037&p1=1> (accessed 16 September 2024). (In Russian)

7. The State Register of plant protection products and fertilizers allowed for use in the territory of the Republic of Belarus. Available at: <https://ggiskzr.by/reestr/> (accessed 28 September 2024). (In Russian)

8. Instruction 1.1.11-12-35-2004. Requirements for experimental studies for primary toxicological assessment and hygienic regulation of substances: utv. M-vom zdavoohraneniya Resp. Belarus' 14 dek. 2004 g. Minsk; 2004. (In Russian)

9. Instruction 048-1215. Determination of acute toxicity of chemical products (chemical substances and their mixtures) at dermal ingestion: utv. Gl. gos. sanitar. vrachom Resp. Belarusi 30 avg. 2016 g. Minsk; 2015. (In Russian)

10. Good laboratory practice: (TKP) 125–2008. Minsk; 2008. 34 p. (In Russian)

11. State Standard 12.1.007-76. Harmful substances. Classification and general safety requirements. Moscow: Standartinform Publ.; 2007. (In Russian)

12. State Standard 32425-2013. Hazard classification of mixed chemical products by their environmental impact. Moscow: Standartinform Publ.; 2019. (In Russian)

e-mail для переписки: tox.lab@mail.ru

Поступила 11.10.2024

Камлюк С. Н., Юркевич Е. С., Ильюкова И. И., Иода В. И.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АЛЬТЕРНАТИВНЫХ ТЕСТ-МОДЕЛЕЙ В СИСТЕМЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КЛАССА ОПАСНОСТИ ОТХОДОВ – ОТРАБОТАННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ПИТАНИЯ (БАТАРЕЕК)

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. В работе обоснована актуальность изучения опасных свойств отходов производства, с акцентом на особом значении данной процедуры для отходов, подлежащих переработке; изложены методы проведения исследований отходов производства по опасному свойству «экоотоксичность», основанные на применении альтернативных тест-моделей – лабораторной культуры ресничных инфузорий *Tetrahymena pyriformis*, семян сельскохозяйственных растений, используемых в фитотесте. Представлены результаты экспериментов по оценке экоотоксичности трех видов отходов – отработанных элементов питания. По результатам проведенных исследований установлено, что изученные отходы – литиевые, никель-кадмиевые и никель-металлогидридные элементы питания относятся к 3 классу опасности (умеренно опасным отходам) согласно данным оценки токсичности как в тест-модели *Tetrahymena pyriformis*, так и в фитотесте. Полученные данные вносят существенный вклад в обеспечение безопасного и рационального обращения с видами отходов, подлежащими переработке, к которым относятся отработанные элементы питания.

Ключевые слова: обращение с отходами, экоотоксичность, фитотест, инфузории, класс опасности, элементы питания, батарейки, переработка.

Введение. Непрерывный рост темпов производства и потребления неизбежно приводит к образованию огромного количества отходов. Поиски решения проблемы утилизации отходов производства и потребления актуальны не только для нашей республики, но и большинства стран мира [1]. Переработка является наиболее перспективным и экологичным после рециклинга направлением из всех возможных путей обращения отходов производства и потребления. Развитие и использование перерабатывающих технологий промышленными предприятиями способно существенно снизить нагрузку на полигоны, создавая более экологичную и экономичную альтернативу захоронению отходов, позволяющую сократить потребление энергии, сберечь потенциально полезные ресурсы, а также способствовать сохранению здоровья населения и поддержанию естественного баланса природных экосистем [2, 3]. Многие виды отходов производства на сегодняшний день могут быть приняты перерабатывающими предприятиями с целью сохранения ценных материальных ресурсов. В частности, элементы питания (батарейки) и аккумуляторы, широко используемые на производстве и в быту, также подлежат переработке, поскольку являются источником ряда элементов, ценных для промышленности, но опасных для здоровья человека и благополучия природной среды. Содержащиеся в элементах питания и аккумуляторах тяжелые металлы – марганец, цинк, свинец, никель, кадмий, литий из-за способности к накоплению в живых организмах и миграции по пищевым цепям, а также к проникновению в грунтовые воды, обуславливают создаваемую данными отходами угрозу для здоровья человека и объектов природной среды в случае неграмотной утилизации – например, смешивании с иными видами отходов и вывоза на полигоны.

Специализированный сбор отработанных элементов питания, практикуемый в настоящее время в нашей республике, во многом позволяет решить данную проблему. В свою очередь необходимым этапом для направления отходов на переработку является установление класса опасности.

В Республике Беларусь процедура обращения с отходами в части их утилизации регламентируется рядом нормативно-правовых актов. В частности, согласно Приложению 1 к Инструкции «О порядке установления степени опасности отходов производства и классе опасности опасных отходов производства», утвержденной постановлением Министерства природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь, Министерства здравоохранения Республики Беларусь, Министерства по чрезвычайным ситуациям Республики Беларусь от 29 ноября 2019 г. № 41/108/65, обозначен перечень отходов, подлежащих проведению исследований по оценке опасных свойств, соответствующих присвоенному коду отходов.

В целях обеспечения безопасного обращения отработанных элементов питания, относящихся к отходам с кодом 3534500 и наименованием «батареи (элементы питания) различных моделей

отработанные», необходимо установление класса опасности в том числе и по свойству «экоотоксичность» [4]. Для исследований отходов по показателям экотоксичности в настоящее время используются тест-модели, представленные организмами с различной таксономической принадлежностью (растениями, ракообразными, моллюсками, олигохетами, рыбами, инфузориями и т. д.) [5–7]. Наряду с другими тест-моделями, представленными водными и почвенными животными, высшими растениями, используемыми в практике биотестирования, ресничные инфузории *Tetrahymena pyriformis* находят эффективное применение не только в системе определения степени токсичности многих видов производственных отходов, но также и в системе оценки качества питьевой, хозяйственно-питьевой воды [8–10].

Настоящая работа содержит данные по изучению отходов трех видов – литиевых, никель-кадмиевых и никель-металлогидридных отработанных элементов питания по параметрам экотоксичности для установления класса опасности.

Цель работы: с применением экспериментальных методов изучить воздействие трех видов отходов, представленным отработанными батарейками – литиевых, никель-кадмиевых и никель-металлогидридных элементов питания, на культуре инфузорий *Tetrahymena pyriformis* и в фитотесте для определения класса опасности по параметрам экотоксичности.

Объектом исследований служили отходы, образующиеся на отечественном предприятии по переработке в результате сбора использованных элементов питания: элементы питания 4 группы (литиевые элементы питания), элементы питания 5 группы (никель-кадмиевые элементы питания), элементы питания 6 группы (никель-металлогидридные элементы питания).

Материалы и методы. Оценка токсичности отходов в тест-модели *Tetrahymena pyriformis*. Условия приготовления вытяжки: соотношение площади к объему модельной среды (дистиллированная вода) 10 г / 100 см³, длительность экспозиции – 10 суток при комнатной температуре. Изучение токсичности вытяжек из образцов отработанных элементов питания проводили в остром, подостром и хроническом экспериментах на тест-модели *Tetrahymena pyriformis* (лабораторная культура ресничных инфузорий). В целях исследования влияния отходов производства – отработанных элементов питания, на *Tetrahymena pyriformis* в остром и подостром экспериментах, использовали водные растворы (вытяжки) из 3 образцов отходов с заданными концентрациями каждого из них: 100; 200; 400; 500; 600; 800; 1000 мг/мл. Отходы изучали в двух повторностях для каждой из заданных концентраций.

Для проведения острого и подострого экспериментов (с длительностью экспозиции 3 ч и 24 ч соответственно) использовали инокулят ресничных инфузорий в стационарной фазе роста. По истечении экспозиционного периода с помощью микроскопа в нативном препарате (водном растворе отходов с заданной концентрацией исследуемого образца) проводили оценку морфологических и поведенческих признаков интоксикации – изменение формы тела, скорости перемещения простейших. С применением счетной камеры Фукса – Розенталя оценено число погибших инфузорий до их фиксации и общее число инфузорий после фиксации. На основании результатов оценки летальности проводили изучение воздействия исследуемых отходов по следующим параметрам токсичности:

ЛД₁₆ – доза, при которой исследуемое вещество оказало летальный эффект для 16 % особей;

ЛД₅₀ – доза, при которой исследуемое вещество оказало летальный эффект для 50 % особей;

ЛД₈₄ – доза, при которой исследуемое вещество оказало летальный эффект для 84 % особей;

К_{кумуля} – коэффициент кумуляции как частное между средней смертельной дозой, полученной в подостром эксперименте, и средней смертельной дозой, полученной в остром эксперименте.

В целях оценки хронического воздействия отходов производства использовали водные вытяжки, содержащие каждый из образцов исследуемых отходов материал в диапазоне концентраций, охватывающем токсичные (ЛД₅₀), пороговые и малые дозы: 10; 50; 100; 200; 400; 500 мг/мл. Свежеприготовленные водные вытяжки из исследуемых отходов вносили в колбочки емкостью 50 мл со стандартной средой культивирования в количестве 10 мл, закрывали ватно-марлевыми пробками и помещали инкубироваться в термостат на 96 часов при температуре +25 °С.

Оценку состояния популяции ресничных инфузорий и подсчет выживших организмов проводили с периодичностью в 1 сутки (по окончании 24, 48, 72 и 96-часовой инкубации), определяя при этом следующие показатели.

Изучение токсичности отходов в фитотесте. Для получения нативного экстракта (вытяжки) из исследуемых отходов использовали измельченные образцы отработанных элементов питания. Экстракцию проводили при соотношении образца отходов и дистиллированной воды 1 г : 10 мл, длительность экспозиции составляла 3 суток при комнатной температуре, при периодическом встряхивании

и перемешивании. Полученные водные экстракты (вытяжки) из отходов фильтровали с применением фильтра «синяя лента». В ходе проведения предварительного этапа исследований в качестве тест-объекта использовали семена огурцов сорта «Белорусский корнишон F 1», редиса сорта «Суперстар», овса сорта «Лидия». Семена высевали по 25 штук в чашки Петри с двумя слоями фильтровальной бумаги, добавляя экстракт из исследуемых образцов в объеме 15 мл (в контрольные чашки по 15 мл дистиллированной воды). Чашки с семенами экспонировали в термостате в течение 7 суток при температуре +24 °С, относительной влажности воздуха 50–70 %, в отсутствии света. По окончании 7-суточной экспозиции проводили измерение длины корешков проростков по корню максимальной длины. Определяли среднее значение ($L_{\text{ср.}}$) длины корней из трех повторностей на каждой культуре семян в опыте и контроле. Сравнивали $L_{\text{ср. опыта}}$ и $L_{\text{ср. контроля}}$ между собой и определяли эффект торможения (E_{T} %).

При наличии фитотоксического действия переходили к основному этапу проведения оценки фитотоксичности отходов: использованные на предварительном этапе оценки водные вытяжки из образцов отходов испытывали в диапазоне разведений: R 5, R 10, R 50 (R – кратность разведения нативного экстракта / водной вытяжки с дистиллированной водой). В качестве тест-объекта использовали семена овса, которые высевали по 25 штук в чашки Петри с двумя слоями фильтровальной бумаги, добавляя разведения экстракта из исследуемого образца в объеме 15 мл. Исследование проводили в 3 повторностях. По окончании 7-суточной экспозиции в термостате измеряли длину корешков проростков с целью определения эффекта торможения (E_{T} %), вызванного воздействием водных вытяжек из трех исследуемых отходов с различной кратностью разведения. На основании полученных результатов по эффекту торможения роста корешков проростков трех культур с применением регрессионного анализа рассчитывали параметры фитотоксичности: значение среднеэффективного разведения (ER_{50}) при величине фитоэффекта 20 %. В свою очередь на основании полученных значений ER_{50} устанавливали класс опасности отходов по фитотоксичности в соответствии с применяемыми критериями [9].

Результаты исследований подвергнуты обработке с применением стандартных статистических методов.

Результаты и их обсуждение. Наблюдение за лабораторной культурой ресничных инфузорий *Tetrahymena pyriformis* в течение 3-часовой экспозиции в острых экспериментах и в течение 24-часовой экспозиции в подострых экспериментах позволило выявить признаки интоксикации при воздействии исследуемых образцов отходов № 1, № 2 и № 3 (литиевые элементы питания и литий-ионные аккумуляторы, никель-кадмиевые элементы питания и никель-металлогидридные элементы питания, соответственно) в концентрациях 200–500 мг/л: замедление движения организмов, появление мертвых особей в поле зрения.

Согласно полученным результатам исследований по показателю острой токсичности (LD_{50}) изученные отходы производства – элементы питания 4, 5 и 6 групп, относятся к 4 классу опасности (представляют собой малоопасные отходы) согласно использованным критериям классификации [9] (таблица 1).

Таблица 1 – Влияние отходов производства (элементов питания), отмеченное в острых и подострых экспериментах на тест-модели *Tetrahymena pyriformis*

Исследуемые отходы	Наименование показателя, ед. измерения	Результат исследований	Класс опасности*
Элементы питания 4 группы: литиевые элементы питания и литий-ионные аккумуляторы	Острый эксперимент		
	LD_{16} , мг/мл	398,8	–
	LD_{50} , мг/мл	$871,5 \pm 5,50$	4
	LD_{84} , мг/мл	2 860	–
	Подострый эксперимент		
	LD_{16} , мг/мл	249,2	–
	LD_{50} , мг/мл	$350,2 \pm 0,30$	–
	LD_{84} , мг/мл	451,2	–
	$K_{\text{кумулят}}$ усл. ед.	0,40	3

Исследуемые отходы	Наименование показателя, ед. измерения	Результат исследований	Класс опасности*
Элементы питания 5 группы: никель-кадмиевые элементы питания	Острый эксперимент		
	ЛД _{16'} мг/мл	326,0	–
	ЛД _{50'} мг/мл	1112,3 ± 7,0	4
	ЛД _{84'} мг/мл	4757,7	–
	Подострый эксперимент		
	ЛД _{16'} мг/мл	22,2	–
	ЛД _{50'} мг/мл	388,2 ± 1,1	–
	ЛД _{84'} мг/мл	754,3	–
	К _{кумуля} усл. ед.	0,35	3
Элементы питания 6 группы: никель-металлогидридные элементы питания	Острый эксперимент		
	ЛД _{16'} мг/мл	87,8	–
	ЛД _{50'} мг/мл	137,5 ± 0,13	4
	ЛД _{84'} мг/мл	163,1	–
	Подострый эксперимент		
	ЛД _{16'} мг/мл	13,3	–
	ЛД _{50'} мг/мл	65,9 ± 0,28	–
	ЛД _{84'} мг/мл	138,6	–
	К _{кумуля} усл. ед.	0,47	3
Примечание – * – ранжирование по классам опасности проведено в соответствии с Инструкцией по применению № 044-1215 (Приложение 6) [9].			

Полученные результаты изучения кумулятивных свойств литиевых, никель-кадмиевых, никель-металлогидридных элементов питания в остром эксперименте показали, что изученные отходы обладают умеренно выраженной кумуляцией и по величине коэффициента кумуляции (К_{кумуля}) относятся к 3 классу опасности – умеренно опасным отходам, – в соответствии с критериями ранжирования отходов по классам опасности на основании показателей токсичности в тест-модели *Tetrahymena pyriformis* [9] (таблица 1).

По результатам проведения хронического эксперимента, литиевые элементы питания проявили незначительное стимулирующее действие на рост популяции инфузорий, отмеченное на протяжении всего жизненного цикла организмов (0–96 часов) в концентрации 10 мг/мл, на протяжении 1–3 суток наблюдения – в концентрации 50 мг/мл, тогда как в условиях воздействия данных отходов в концентрациях 50–100 мг/мл установлено снижение жизненной активности популяции инфузорий к окончанию 96-часовой экспозиции (таблица 2).

Таблица 2 – Влияние отходов производства (элементов питания), отмеченное в хронических экспериментах на тест-модели *Tetrahymena pyriformis*

Исследуемые отходы	Концентрация отходов производства, мг/мл	Время инкубации, ч			
		24	48	72	96
численность популяции в % к контролю					
Элементы питания 4 группы: литиевые элементы питания и литий-ионные аккумуляторы	0 (контроль)	100	100	100	100
	10	160	198	126	109
	50	269	225	105	27
	100	373	301	78	2,00
	200	330	213	140	–
	400	327	140	4,00	–
	500	300	131	–	–
Элементы питания 5 группы: никель-кадмиевые элементы питания	0 (контроль)	100	100	100	100
	10	201	111	183	108
	50	296	126	185	107
	100	267	113	112	101
	200	274	102	72	65
	400	226	76	58	43
	500	105	38	26	18

Исследуемые отходы	Концентрация отходов производства, мг/мл	Время инкубации, ч			
		24	48	72	96
численность популяции в % к контролю					
Элементы питания 6 группы: никель-металлогидридные элементы питания	0 (контроль)	100	100	100	100
	10	111	140	102	99
	50	133	118	102	98
	100	122	111	90	66
	200	69	60	55	72
	400	56	35	–	–
	500	39	27	–	–

Данные, полученные при изучении воздействия водных вытяжек из никель-кадмиевых элементов питания в диапазоне концентраций 10–100 мг/мл, также свидетельствуют об их значительном стимулирующем воздействии на рост популяции инфузорий, отмеченном на протяжении всего жизненного цикла организмов (0–96 часов), тогда как при высоких концентрациях отходов (400 и 500 мг/мл) угнетающее влияние было зарегистрировано уже на вторые сутки инкубации организмов. Результаты исследований никель-металлогидридных элементов питания показали наименее выраженное рост-стимулирующее воздействие даже на начальных этапах инкубации: возрастание численности культуры в данном эксперименте было отмечено в условиях воздействия отходов в концентрациях 10–100 мг/мл только на протяжении 1-2 суток экспозиции (таблица 2). Выраженное токсическое действие исследуемых отходов установлено в условиях их воздействия на тест-объект в наивысших заданных концентрациях: при концентрации отходов, оставляющей 500 мг/мл, 100 % гибель организмов отмечена через 72 ч, при 400 и 500 мг/мл – через 96 ч от начала экспозиции (таблица 2).

Вероятно, металлы в биодоступной форме, присутствующие в водных вытяжках из гомогенизированных образцов отходов производства (отработанных элементов питания) в незначительных количествах, восполняют дефицит микроэлементов для быстрорастущей культуры одноклеточных организмов, результатом чего является отмеченный позитивный эффект в форме увеличения численности популяции инфузорий, содержащихся в условиях воздействия исследуемых отходов производства в наименьшей из заданных концентраций (10 мг/мл) (таблица 2).

По результатам токсикологических исследований отходов, представленных отработанными элементами питания трех типов, в хроническом эксперименте на *Tetrahymena pyriformis* определены значения максимальной недействующей дозы, а также значения $K_{\text{кумулятив}}$ *Tetrahymena pyriformis* [9]. Данные, полученные в ходе проведения хронических экспериментов, показали, что по способности накапливаться в организме тест-объекта исследованные отходы производства относятся к 3 классу опасности (являются умеренно опасными отходами).

Таким образом, результаты анализа данных, полученных при изучении параметров токсичности и биологического действия отработанных батареек – литиевых, никель-кадмиевых и никель-металлогидридных элементов питания, в острых, подострых и хронических экспериментах на тест-модели *Tetrahymena pyriformis* свидетельствуют о возможности отнесения изученных отходов к 3 классу опасности (умеренно опасным отходам) [9].

Проведение исследований отработанных элементов питания по параметрам фитотоксичности на предварительном и основном этапах позволило выявить значительное угнетающее действие данных отходов на рост корешков высших растений – сельскохозяйственных культур. Данные, полученные по итогам 7-суточной экспозиции семян, выбранных для эксперимента сельскохозяйственных культур, позволили выявить значительный эффект угнетения роста корешков проростков семян, рассчитанное значение которого для каждого из изученных отходов превышало порог фитотоксичности, установленный на уровне 20 % согласно методике исследований (таблица 3) [9].

В ходе проведения исследований по изучению токсичности отработанных батареек различного типа на эффективность роста сельскохозяйственных культур в фитотесте установлено значительное угнетение развития корешков проростков, наблюдаемое в условиях влияния водных вытяжек с различными концентрациями отходов.

Таблица 3 – Результаты проведения предварительного этапа исследований по оценке фитотоксического эффекта трех видов отходов

Условия эксперимента	Тест-культура (семена)	Средняя длина корней проростков (L_{cp}), мм	Эффект торможения E_r , %
Контроль	Огурцы	7,25	–
	Редис	8,43	–
	Овес	6,93	–
Литиевые элементы питания	Огурцы	4,57	36,96
	Редис	5,38	36,18
	Овес	3,03	56,27
Никель-кадмиевые элементы питания	Огурцы	5,76	20,55
	Редис	5,93	29,65
	Овес	3,24	53,24
Никель-металлогидридные элементы питания	Огурцы	5,76	20,55
	Редис	5,93	29,65
	Овес	3,24	53,24

Наибольшую чувствительность проявили семена овса, на основании чего основной этап эксперимента проводили на семенах данной культуры с целью установления класса опасности отходов по показателю средне-эффективного разведения (ER_{50}).

Результаты основного этапа эксперимента. По результатам оценки фитотоксичности отработанных элементов питания трех типов для каждого из образцов отходов определены эффекты торможения (E_r , %) роста корешков растений относительно контроля в каждом разведении (таблица 4) [9].

Таблица 4 – Результаты проведения основного этапа исследований по оценке фитотоксического эффекта трех видов отходов отработанных элементов питания

Условия эксперимента	Кратность разведения, R	Средняя длина корней проростков (L_{cp}), мм	Эффект торможения E_r , %
Контроль	–	6,93	–
Литиевые элементы питания	5	4,37	36,94
	10	5,17	25,39
	50	6,43	7,21
Никель-кадмиевые элементы питания	5	4,37	36,94
	10	5,17	25,39
	50	6,43	7,21
Никель-металлогидридные элементы питания	5	4,37	36,94
	10	5,17	25,39
	50	6,43	7,21

Установленное расчетным путем значение средне-эффективного разведения (ER_{50}) для изученных отходов, представленных литиевыми, никель-кадмиевыми и никель-металлогидридными элементами питания, составило 1,9; 2,0 и 2,05, соответственно, на основании чего можно заключить, что отработанные элементы питания трех типов могут быть отнесены к 3 классу опасности в соответствии с классификацией степени выраженности фитотоксического действия [9].

Заключение. По результатам проведенных исследований установлено, что изученные отходы – литиевые, никель-кадмиевые и никель-металлогидридные отработанные элементы питания (батарейки) относятся к 3 классу опасности (умеренно опасным отходам) согласно данным оценки токсичности как в тест-модели *Tetrahymena pyriformis*, так и в фитотесте. Полученные данные вносят существенный вклад в обеспечение безопасного и рационального обращения с видами отходов, подлежащими переработке, к которым относится большинство типов отработанных батареек.

Таким образом, применение батареи тест-моделей, представленных организмами, обитающими в различных природных условиях (водные и почвенные организмы), принадлежащими к различным таксонам и занимающим различные экологические ниши, целесообразно для получения репрезентативных данных по характеру возможного техногенного воздействия (включая влияние отходов производства) на состояние природной среды и здоровье населения [11].

Сведения о НИР. НИР «Научное обоснование классов опасности отходов производства ООО «Завод полимерных технологий» по опасным свойствам «токсичность» и «экотоксичность» для обеспечения безопасного обращения на территории Республики Беларусь», регистрационный номер 20230333.

Литература

1. A scientometric study on industrial effluent and sludge toxicity / A. Mostafaie, D. N. Cardoso, M. Kamali, S. Loureiro // *Toxics*. – 2021. – Vol. 9, № 8. – P. 176. – DOI: 10.3390/toxics9080176.

2. Боровенко, М. Е. Переработка органических отходов: анализ отечественного опыта и предпосылки для внедрения / М. Е. Боровенко, Т. С. Андреева // *Инновационная наука*. – 2022. – № 4-2. – С. 40–43.

3. Разработка технологии переработки полимерсодержащих отходов ОАО «Белцветмет» / Е. З. Хрол, А. Ф. Петрушеня, М. М. Ревяко, Е. П. Пучинская // *Труды БГТУ. Серия 2: Химические технологии, биотехнология, геоэкология*. – 2016. – № 4. – С. 206–209.

4. Классификатор отходов, образующихся в Республике Беларусь ОКРБ 021-2019 : утв. постановлением М-ва природных ресурсов и охраны окружающей среды Респ. Беларусь от 09 сент. 2019 г. № 3-Т // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь. – URL: https://pravo.by/document/?gu_id=12551&p0=W21934631p&p1=1 (дата обращения: 17.09.2024).

5. Брежнева, И. Н. Биотестирование бурового шлама на экотоксичность / И. Н. Брежнева, М. П. Трифонова // *Проблемы региональной экологии*. – 2019. – № 3. – С. 38–41.

6. Оценка токсичности отходов нефтедобычи методами биотестирования / Р. Б. Сипулинов, Ю. В. Карагайчева, Н. А. Шилова, С. М. Рогачева // *Известия Самарского научного центра Российской Академии Наук*. – 2015. – Т. 17, № 5, ч. 3. – С. 695–699.

7. Применение водных и почвенных беспозвоночных животных в системе определения класса опасности отходов производства – шлама камнеобработки / С. Н. Камлюк, О. А. Борис, С. Ю. Петрова [и др.] // *Медицина труда и экология человека*. – 2021. – № 1. – С. 49–54.

8. Инструкция по гигиенической оценке химических веществ, многокомпонентных смесей и полимерных материалов на *Tetrahymena pyriformis* № 20-0102 : утв. М-вом Респ. Беларусь 11.07.2002 / авт.-сост. А. С. Богдан. – Минск, 2002. – 63 с.

9. Метод экспериментального определения токсичности отходов производства : инструкция по применению № 044-1215 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 07.04.2016 / Респ. унитар. предприятие «Научно-практический центр гигиены»; И. И. Ильюкова, С. Ю. Петрова, А. М. Войтович [и др.]. – Минск, 2015. – 51 с.

10. Метод гигиенической оценки безопасности способов обеззараживания воды : инструкция по применению № 015-1118 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 19.12.2018 / Респ. унитар. предприятие «Научно-практический центр гигиены»; Е. В. Дроздова, В. В. Гирина, Н. В. Дудчик [и др.]. – Минск, 2018. – 28 с.

11. Рахманин, Ю. А. Отходы как интегральный эколого-гигиенический критерий комплексного воздействия на окружающую среду и здоровье населения / Ю. А. Рахманин, Н. В. Русаков, Н. М. Самутин // *Гигиена и санитария*. – 2015. – № 6. – С. 5–10.

USE OF ALTERNATIVE TEST MODELS IN THE SYSTEM OF DETERMINATION OF HAZARD CLASS OF WASTE – SPENT POWER CELLS (BATTERIES)

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

The paper substantiates the relevance of studying the hazardous properties of industrial waste, with emphasis on the special importance of this procedure for wastes subject to recycling; the methods of conducting studies of industrial waste on the hazardous property «ecotoxicity» based on the use of alternative test models – laboratory culture of ciliate infusoria *Tetrahymena pyriformis*, seeds of agricultural plants used in phytotest. The results of experiments to assess the ecotoxicity of three types of waste – spent food elements – are presented. According to the results of the research it was found that the studied wastes – lithium, nickel-cadmium and nickel-metal hydride batteries belong to the 3rd class of hazard (moderately hazardous wastes) according to the data of toxicity assessment both in the *Tetrahymena pyriformis* test model and in the phytotest. The data obtained make a significant contribution to the safe and rational management of recyclable wastes, which include spent batteries.

Keywords: waste management, ecotoxicity, phytotest, infusoria, hazard class, batteries, recycling.

References

1. Mostafaie A., Cardoso D. N., Kamali M., Loureiro S. A scientometric study on industrial effluent and sludge toxicity. *Toxics*. 2021; 9(8): 176. DOI: 10.3390/toxics9080176.
2. Borovento M. E., Andreeva T. S. Recycling of organic waste: analysis of domestic experience and prerequisites for implementation. *Innovatsionnaya nauka*. 2022; 4–2: 40–43. (In Russian)
3. Khrol E. Z., Petrushenya A. F., Revyako M. M., Puchinskaya E. P. Development of processing technology for polymer waste of JSC «Beltsvetmet». *Tr. BGTU. Seriya 2: Khim. tekhnologii, biotekhnologiya, geoekologiya*. 2016; 4: 206–209. (In Russian)
4. Classifier of waste generated in the Republic of Belarus OKRB 021-2019: Approved. Resolution of the Ministry of natural resources and environmental protection of the republic. Belarus 09.09.2019 No. 3-T. Available at: <https://pravo.by/document/?guid=12551&p0=W21934631p&p1=1> (accessed 17 September 2024).
5. Brezhneva I. N., Trifonova M. P. Biotesting of drilling cuttings on ecotoxicity. *Problemy regional'noi ehkologii*. 2019; 3: 38–41. (In Russian)
6. Sipulinov R. B., Karagaycheva Yu. V., Shilova N. A., Rogacheva S. M. Estimation the toxicity of oil production waste by biotesting methods. *Izv. Samarskogo nauch. tsentra Ros. Akad. Nauk*. 2015; 17(5, ch. 2): 695–9. (In Russian)
7. Kamliuk S. N., Boris O. A., Petrova S. Yu et al. Application of aquatic and soil invertebrate animals in the system of determining the hazard class of industrial waste – stone processing sludge. *Labor Medicine and Human Ecology*. 2021; 1: 4954. (In Russian)
8. Instruction on hygienic evaluation of chemical substances, multi-component mixtures and polymeric materials on *Tetrahymena pyriformis* 20-0102. Minsk; 2004: 43. (In Russian)
9. Ilyukova I. I., Petrova S. Yu., Voitovich A. et al. Method for experimental determination of toxicity of industrial waste: instructions for use No. 044-1215. Ministry of Health of the Republic of Belarus 07.04.2016. Minsk; 2016: 56. (In Russian).
10. Drozdova E. V, Girina V. V., Dudchik N. V. et al. Method for hygienic assessment of the safety of water disinfection methods: instructions for use No. 015-1118. Ministry of Health of the Republic of Belarus 19.12.2018. Minsk; 2018: 28. (In Russian).
11. Rakhmanin Yu. A., Rusakov N. V., Samutin N. M. Waste as integrated ecologo-hygienic criteria of the comprehensive impact on the environment and population health. *Gig Sanit*. 2015; 6: 5–10. (In Russian)

e-mail для переписки: kamliuk308svetlana@gmail.com

Поступила 11.10.2024

Котнова А. П., Аверьянова Н. С., Демидова Ю. В., Егорова О. В., Илюшина Н. А.

ОЦЕНКА МУТАГЕННОЙ АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ ТЕХНИЧЕСКИХ ПРОДУКТОВ ДЕЙСТВУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ ФУНГИЦИДОВ ИЗ КЛАССА ТРИАЗОЛОВ

Федеральное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека, г. Мытищи, Россия

Аннотация. Триазолы – химический класс, объединяющий органические вещества, структурная формула которых содержит ароматические пятичленные циклы. Благодаря уникальному механизму действия, а также широкому спектру активности, стали самыми продаваемыми фунгицидами. Показано, что триазолы способны поступать в организм человека с продуктами животного происхождения и растительной продукцией. Таким образом, важной задачей является оценка мутагенности пестицидов на основе триазолов. В данном исследовании проведена оценка мутагенной активности технических продуктов (далее – ТП) действующих веществ фунгицидов из класса триазолов разных производителей, а именно: дифенокназола (4 ТП), пропиконазола (5 ТП), протиокназола (1 ТП), тебуконазола (5 ТП), триадимефона (1 ТП), тритиконазола (5 ТП), флутриафола (5 ТП), ципроконазола (4 ТП), эпоксиконазола (3 ТП). Оценка генотоксичности проводили с использованием метода обратных генных мутаций на 5 штаммах *Salmonella typhimurium* в условиях метаболической активации (+S9) и в ее отсутствии (–S9) и микроядерного теста на мышах линии CD-1. ТП действующих веществ пестицидов не проявляли мутагенной активности ни в одном из тестов, что свидетельствует об их безопасности по критерию «мутагенность». При этом для ряда ТП показано ингибирующее действие на эритропоэз в костном мозге мышей.

Ключевые слова: фунгициды, технические продукты действующих веществ пестицидов из класса триазолов, мутагенная активность, тест Эймса, микроядерный тест.

Введение. Использование пестицидов для защиты сельскохозяйственных растений от заболеваний является одним из самых распространенных и эффективных методов. Особое внимание уделяется борьбе с многочисленными грибковыми заболеваниями, которые не только приводят к снижению урожайности, но и несут опасность для человека и сельскохозяйственных животных. Так, некоторые грибы, например *Fusarium spp.*, при поражении растений способны продуцировать микотоксины, что может серьезно навредить конечным потребителям сельскохозяйственной продукции [1, 2].

Описаны различные соединения, обладающие фунгицидной активностью против широкого спектра грибов; среди них особенно популярны дитиокарбаматы, азолы, стробилурины и бензимидазолы [2]. Все фунгициды по месту действия подразделяются на контактные и системные. Контактные не способны проникать в растения, они лишь препятствуют проникновению патогена в растение. Системные фунгициды легко проникают через кутикулу листьев и стеблей растения и способны перемещаться по ксилеме/флоэме. Они обладают как защитным, так и лечебным действием [1]. К наиболее широко используемым фунгицидам относятся триазолы.

Триазолы – химический класс, объединяющий органические вещества, структурная формула которых содержит ароматические пятичленные циклы с тремя атомами азота и двумя атомами углерода. В 70-х годах прошлого века в сельском хозяйстве триазолы и их производные, обладающие фунгицидными свойствами, заменили устаревающие бензимидазолы. Благодаря уникальному механизму действия (ингибируют синтез эргостерина, жизненно важного компонента мембран грибковых клеток, тем самым нарушая их рост и репликацию), а также широкому спектру активности, стали самыми продаваемыми фунгицидами. Триазолы проявляют широкий спектр биологической активности, включая противомикробные, фунгицидные, гербицидные, инсектицидные свойства, а также регуляцию роста растений. В связи с этим многие из них используют как действующие вещества препаративных форм пестицидов для обработки множества сельскохозяйственных культур, в частности, хлебных злаков, кукурузы, риса, проса, гороха, подсолнечника, рапса, винограда, сахарной свеклы, томатов, моркови, картофеля и др. [3]. Среди них есть фунгициды как контактного, так и системного действия. К веществам, действующим на поверхности растений, относятся эфинаконазол, терконазол и фосфлуконазол. К системным триазолам – ципроконазол, триамедифон, тритиконазол, пропиконазол, протиокназол, флутриафол, эпоксиконазол, тебуконазол. Дифенокназол проявляет оба эти действия. Поскольку

некоторые триазолы способны проникать в растение, они могут содержаться не только в обработанных листьях и стеблях, но и в плодах, семенах, корнеплодах и других органах [3].

В настоящее время известно около 40 производных триазолов, используемых в качестве фунгицидов. Показано, что триазолы способны поступать в организм человека с продуктами животного происхождения (например, с козьим молоком). Однако более вероятно их попадание в организм с растительной продукцией. Так, пропиконазол выявляли в белом и красном вине, яблоках, сельдерее и других плодовых и овощных культурах, дифеноконазол – в бананах, китайской капусте, рисе и пшенице. Кроме того, триазолы способны проникать в организм с загрязненной ими водой, а также при контакте с кожей и вдыхании [3]. Таким образом, важной задачей является оценка мутагенности пестицидов на основе триазолов.

Цель работы – провести оценку мутагенной активности технических продуктов действующих веществ пестицидов из класса триазолов.

Материалы и методы. Оценка мутагенной активности технических продуктов действующих веществ фунгицидов из класса триазолов осуществляли с использованием теста Эймса (ОЭСР № 471) на 5 штаммах *Salmonella typhimurium* и микроядерного теста (далее – МЯ-тест) *in vivo* на млекопитающих (мыши CD-1) (ОЭСР № 474).

Оценку мутагенности технических продуктов действующих веществ пестицидов из класса триазолов с использованием метода обратных генных мутаций проводили на 5 штаммах *Salmonella typhimurium* в диапазоне концентраций 0,05–5,0 мг/чашка в условиях метаболической активации (+S9) и без микросомной активирующей смеси (–S9) в стандартном чашечном тесте [4, 5]. Индикаторные штаммы *S. typhimurium* B-5291 (TA97), B-5294 (TA98), B-5303 (TA1535), B-5300 (TA100), B-5393 (TA102) получены из Всероссийской Коллекции Промышленных Микроорганизмов. При выделении, хранении и проверке генотипов культур руководствовались методикой, описанной ранее [6]. Постмитохондриальная фракция печени самцов беспородных белых крыс со средней массой 150–180 г получена в условиях индукции соволом (300 мг/кг м. т.) при однократном внутрибрюшинном введении.

В качестве отрицательного контроля (далее – ОК) использовали растворитель диметилсульфоксид. Положительными контролями служили: в условиях метаболической активации 2-аминоантрацен (10 мкг/чашка); без метаболической активации: 2-нитрофлуорен (20 мкг/чашка, TA98), азид натрия (20 мкг/чашка, TA100 и TA1535), метилметансульфонат (5 мкг/чашка, TA102) и 9-аминоакридин (50 мкг/чашка, TA97). Критерии оценки мутагенной активности в тесте Эймса указаны в [7].

Исследования *in vivo* в микроядерном тесте проводили на мышах линии CD-1 обоих полов согласно [8, 9]. Использовали по 5 мышей в группе. Исследуемые образцы вводили внутривентрикулярно в виде суспензий в подсолнечном масле или крахмале в дозах, определенных в предварительных экспериментах. Костный мозг вымывали из бедренных костей эмбриональной сывороткой теленка и готовили по 2 микропрепарата от каждого животного в соответствии с общепринятой методикой [10, 11]. Микропрепараты окрашивали, используя набор «Leucodif 200», кодировали и исследовали микроскопически (микроскоп Nikon Eclipse Ci-L, Япония), подсчитывая по 4000 полихроматофильных эритроцитов (далее – ПХЭ) в случае оценки частоты микроядер, а также определяли долю ПХЭ от общего числа эритроцитов, подсчитывая не менее 500 эритроцитов для каждого животного. Критерии оценки мутагенной активности в микроядерном тесте указаны в [11].

Статистический анализ результатов исследования проводили с использованием программы SPSS Statistics v. 22.0 (IBM, США). Для анализа результатов, полученных в тесте Эймса, применяли критерий Даннетта *t* и ранговый метод Спирмена (при $\alpha = 0,05$). Сравнения частоты ПХЭ с микроядрами в группах обработки осуществляли с помощью построения обобщенной лог-линейной модели для распределения Пуассона ($\alpha = 0,05$). Данные также были проверены на наличие зависимости частоты ПХЭ с микроядрами от дозы тестируемого вещества методом Мантеля – Хензеля.

В данном исследовании проведена оценка генетической безопасности ТП действующих веществ пестицидов из класса триазолов разных производителей, а именно: дифеноконазола (4 ТП, чистота 97,9 %; 95,5 %; 95,6 %; 92,0 %), пропиконазола (5 ТП, чистота 95,0 %; 95,3 %; 98,4 %; 95,2 %, не менее 98 %), протиоконазола (1 ТП, чистота 97,3 %), тебуконазола (5 ТП, чистота 97,0 % – 2 ТП; 98,4 % – 2 ТП; 97,7 %), триадимефона (1 ТП, чистота 96,0 %), тритикоконазола (5 ТП, чистота 98,0 % – 2 ТП; 95,3 %; 97,2 %; 98,1 %), флутриафола (5 ТП, чистота 97,6 %; 93,1 %; 94,0 %; 95,6 %; 96,2 %), ципроконазола (4 ТП, чистота 94,0 %; 96,8 %; 97,5 %; 95,9 %), эпоксиконазола (3 ТП, чистота 95,2 %; 97,6 %; 97,5 %).

Результаты и их обсуждение. Результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Оценка генотоксических эффектов, вызываемых техническими продуктами фунгицидов из класса триазолы, в тестах *in vitro* и *in vivo*

Действующее вещество	Количество технических продуктов	Эффекты <i>in vitro</i> (тест Эймса)	Эффекты <i>in vivo</i> (МЯ-тест)		
			Статистически значимое повышение частоты ПХЭ с микроядрами	Статистически значимая зависимость эффекта от дозы	Выход за верхнюю границу исторического отрицательного контроля
Дифеноконазол	4	-/-/-	-/+/н. о./-	-/+/н. о./-	-/-/н. о./-
Пропиконазол	5	-/-/-/-	-/-/-/н. о.	-/-/-/н. о.	-/-/-/н. о.
Протиокконазол	1	-	-	-	-
Тебуконазол	5	-/-/-/-	-/-/н. о./-/-	-/-/н. о./-/-	-/-/н. о./-/-
Триадимефон	1	-	-	-	-
Тритриконазол	5	-/-/-/-	н. о./-/н. о./-/н. о.	н. о./-/н. о./-/н. о.	н. о./-/н. о./-/н. о.
Флутриафол	5	-/-/-/-	-/-/-/-	-/-/-/-	-/-/-/-
Ципроконазол	4	-/-/-/-	-/н. о./-/-	-/н. о./-/-	-/н. о./-/-
Эпоксиконазол	3	-/-/-	-/+*/-	-/-/-	-/-/-

Примечания:
 1) н. о. – не определяли;
 2) «-» – нет эффекта;
 3) «+» – есть эффект;
 4) * – только у самцов.

По итогам проведенных экспериментов ни один из исследованных ТП не проявлял мутагенной активности. В экспериментах *in vitro* изученные ТП не индуцировали обратные генные мутации у бактерий *Salmonella typhimurium* (TA97, TA98, TA100, TA102 и TA1535) ни в присутствии, ни в отсутствие системы метаболической активации. В экспериментах на мышах линии CD-1 в подавляющем большинстве случаев тестируемые ТП не вызывали достоверного увеличения частоты встречаемости полихроматофильных эритроцитов с микроядрами относительно сопутствующего отрицательного контроля, что свидетельствует об отсутствии кластогенной и анеугенной активности. Лишь ТП2 дифеноконазола (чистота 95,5 %) вызывал статистически значимое зависимое от дозы повышение частоты индукции микроядер в полихроматофильных эритроцитах, а ТП2 эпоксиконазола (чистота 97,6 %) в максимальной дозе 2000 мг/кг м. т. вызывал статистически значимое повышение частоты индукции микроядер у самцов мышей. Однако частота полихроматофильных эритроцитов, содержащих микроядра, в костном мозге мышей в обоих случаях не выходила за рамки исторического отрицательного контроля в лаборатории. Поэтому обнаруженный эффект является незначимым с биологической точки зрения.

Определены максимально переносимые дозы (далее – МПД) пестицидов для мышей. МПД ТП пропиконазола и триадимефона составила 200 мкг/кг м. т., для ТП тебуконазола она варьировала в интервале 400–1000 мкг/кг м. т., флутриафола – в интервале 50–75 мкг/кг м. т., ципроконазола – в интервале 110–280 мкг/кг м. т. для самцов и 220–280 мкг/кг м. т. для самок. На препаратах костного мозга животных, которым вводили внутривенно ТП тебуконазола, флутриафола и ципроконазола, наблюдали сильное подавление эритропоэза.

В случае ТП дифеноконазола, протиокконазола, тритриконазола, эпоксиконазола в дозах до 2000 мг/кг м. т. (максимальная доза, рекомендуемая в руководстве OECD № 474) признаков токсичности не наблюдалось.

Заключение. Согласно результатам проведенного исследования, в тест-системе *Salmonella*/микросомы и микроядерном тесте *in vivo* ни для один из исследованных технических продуктов фунгицидов из класса триазолов не проявлял мутагенной активности, что свидетельствует об их безопасности по критерию «мутагенность».

Литература

1. Физиологические эффекты действия на растения фунгицидов триазольной природы / Т. П. Побежимова, А. В. Корсукова, Н. В. Дорофеев, О. И. Грабельных // Известия ВУЗОВ. Прикладная химия и биотехнология. – 2019. – Т. 9, № 3. – С. 461–476.
2. Hof, H. Critical annotations to the use of azole antifungals for plant protection / H. Hof // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2001. – Vol. 45, № 11. – P. 2987–2990.
3. Триазолы // Stylab. – URL: <https://stylab.ru/directory/pesticides/triazoles/> (дата обращения: 05.10.2024).

4. Bacterial reverse mutation test : test № 471 // OECD guidelines for the testing of chemicals. – Sect. 4 : Health effects. – Paris, 2020. – URL: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-471-bacterial-reverse-mutation-test_9789264071247-en (date of access: 05.10.2024).

5. ГОСТ 32376-2013. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Метод оценки обратных мутаций на бактериях. – Введ. 01.08.2014. – М. : Стандартиформ, 2019. – 8 с.

6. Егорова, О. В. Оценка экспериментальных условий, влияющих на уровень спонтанных мутаций штаммов *Salmonella*, используемых в тесте Эймса / О. В. Егорова, Ю. В. Демидова, Н. А. Илюшина // Гигиена и санитария. – 2021. – Т. 100, № 7. – С. 736–743.

7. Egorova, O. V. Mutagenicity evaluation of pesticide analogs using standard and 6-well miniaturized bacterial reverse mutation tests / O. V. Egorova, N. A. Ilyushina, V. N. Rakitskii // *Toxicology in Vitro*. – 2020. – Vol. 69. – P. 105006. – DOI: 10.1016/j.tiv.2020.105006.

8. Mammalian erythrocyte micronucleus test : test № 474 // OECD guidelines for the testing of chemicals. – Sect. 4 : Health effects. – Paris, 2016. – URL: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-474-mammalian-erythrocyte-micronucleus-test_9789264264762-en (date of access: 05.10.2024).

9. ГОСТ 34660-2020. Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Микроядерный анализ на эритроцитах млекопитающих. – Введ. 01.07.2021. – М. : Стандартиформ, 2020. – 21 с.

10. Оценка мутагенной активности пестицидов : метод. указания МУ № 1.2.3364–16 / Федер. науч. центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана [и др.]. – М. : Федер. центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2016. – 49 с.

11. Оценка генотоксичности химических веществ в микроядерном тесте *in vivo* на эритроцитах костного мозга млекопитающих : метод. рекомендации МР № 1.2.0264-21. – URL: <https://wp.normacs.ru/Doclist/doc/265HH.html> (дата обращения: 05.10.2024).

Kotnova A. P., Averianova N. S., Demidova Yu. V., Egorova O. V., Ilyushina N. A.

ASSESSMENT OF MUTAGENIC ACTIVITY OF SOME TECHNICAL GRADE ACTIVE INGREDIENTS OF FUNGICIDES FROM THE CHEMICAL CLASS OF TRIAZOLES

Federal Budgetary Establishment of Science «Federal Scientific Center of Hygiene named after F. F. Erisman» of the Federal Service for Surveillance on Consumer Protection and Human Wellbeing, Mytishchi, Russia

Triazoles are a chemical class of organic substances characterized by the presence of aromatic five-membered cycles. These substances have become the best-selling fungicides due to their unique mechanism and wide spectrum of action. It has been established that triazoles have the ability to enter into human organism with animal source foods and plant products. So, assessment of triazole pesticide mutagenicity is important task. In this study we estimated the mutagenic activity of technical grade active ingredients (TGAs) of triazole fungicides from different manufacturers (namely, of diphenconazole (4 TGAs), propiconazole (5 TGAs), prothioconazole (1 TGA), tebuconazole (5 TGAs), triadimephone (1 TGA), triticonazole (5 TGAs), flutriafol (5 TGAs), ciproconazole (4 TGAs), epoxiconazole (3 TGAs)). We have estimated genotoxicity using the reverse gene mutation test with 5 strains of *Salmonella typhimurium* in presence (+S9) and absence (–S9) of metabolic activation system and micronuclear test with CD-1 mice. TGAs of pesticides did not exhibit mutagenic activity in any tests, that services as evidence of safety according to the criterion of «mutagenicity». At the same time, we have established that some TGAs have ability to inhibit of erythropoiesis in mice bone marrow.

Keywords: fungicides, technical products of triazole fungicides, mutagenic activity, Ames test, micronucleus test.

References

1. Pobezhimova T. P., Korsukova A. V., Dorofeev N. V., Grabelnych O. I. Physiological effects of triazole fungicides in plants. *Proc Univ. Appl Chem Biotechnol*. 2019; 9(3): 461–76. (In Russian)

2. Hof H. Critical annotations to the use of azole antifungals for plant protection. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001; 45(11): 2987–90.

3. Triazoles. In: Stylab. Available at: <https://stylab.ru/directory/pesticides/triazoles/> (accessed 05 October 2024).

4. Bacterial reverse mutation test: Test № 471. In: *OECD guidelines for the testing of chemicals*. Sect. 4: Health effects. Paris; 2020. Available at: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-471-bacterial-reverse-mutation-test_9789264071247-en (accessed 05 October 2024).

5. State Standard 32376-2013. *Testing of chemicals of human hazard. Bacterial reverse mutation test*. Moscow: Standartinform Publ.; 2019. (in Russian)

6. Egorova O. V., Demidova Yu. V., Ilyushina N. A. Assessment of experimental conditions affecting spontaneous mutation level of Salmonella strains used in the Ames test. *Gyg Sanit.* 2021; 100(7): 736–43. (In Russian)

7. Egorova O. V., Ilyushina, N. A., Rakitskii V. N. Mutagenicity evaluation of pesticide analogs using standard and 6-well miniaturized bacterial reverse mutation tests. *Toxicol Vitro.* 2020; 69: 105006. DOI: 10.1016/j.tiv.2020.105006.

8. Mammalian erythrocyte micronucleus test: Test № 474. In: *OECD guidelines for the testing of chemicals*. Sect. 4: Health effects. Paris; 2016. Available at: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-474-mammalian-erythrocyte-micronucleus-test_9789264264762-en (accessed 05 October 2024).

9. State Standard 34660-2020. *Methods of testing the impact of chemical products on the human body. Micronucleus analysis on the erythrocytes of mammals*. Moscow: Standartinform Publ.; 2020. (in Russian)

10. Assessment of mutagenic activity of pesticides: Metod. ukazaniya MU № 1.2.3364. Moscow: Feder. centr gigieny i epidemiologii Rospotrebnadzora; 2016. (in Russian)

11. Evaluation of the genotoxicity of chemicals in an in vivo micronucleus test on mammalian bone marrow erythrocytes: Metod. rekomendacii MR № 1.2.0264-21. Available at: <https://wp.normacs.ru/Doclist/doc/265HH.html> (accessed 05 October 2024). (in Russian)

e-mail для переписки: averianova.ns@fncg.ru

Поступила 07.10.2024

УДК 615.46/47:612.1-021.29

Лапно Л. Г., Сычик С. И., Грынчак В. А.

РАЗРАБОТКА ДИНАМИЧЕСКОЙ *IN VITRO* ТЕСТ-МОДЕЛИ ИСКУССТВЕННОГО КРОВОТОКА ДЛЯ ОЦЕНКИ ГЕМОСОВМЕСТИМОСТИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии
и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Разработана динамическая *in vitro* тест-модель искусственного кровотока на основе модели Haemobile, позволяющая оценить гемосовместимость медицинских изделий, в которой используется цельная гепаринизированная кровь человека. Установлены оптимальные условия *in vitro* моделирования: время от момента забора крови у волонтеров до начала инкубации – не более 50 минут при температуре 20–25 °С; длительность инкубации на Haemobile – 20 минут при температуре 37 °С. Для определения морфофункционального состояния крови в эксперименте должны применяться трубки из поливинилхлорида (далее – ПВХ). Длина ПВХ трубок – 45 см, диаметр – 5 мм. Для оценки гемосовместимости приоритетными показателями являются: количество тромбоцитов и лейкоцитов, фрагмент протромбина F1+2, тромбин-антитромбиновый комплекс III (далее – ТАТ III), бета-тромбоглобулин, тромбоксан В2 и белок расщепления комплемента С3а. Экспериментально обоснованы: отрицательный контроль – образцы крови в «пустых» ПВХ трубках, положительный контроль – образцы крови в ПВХ трубках со шлифованным стеклом. Соотношение площади поверхности медицинского изделия к объему крови в положительном контроле должно составлять ~ 0,6 см²/мл.

Ключевые слова: динамическая *in vitro* тест-модель, гемосовместимость, кровь человека, медицинские изделия, коагуляция, тромбоциты, лейкоциты.

Введение. Внедрение в практическое здравоохранение новых материалов и изделий медицинского назначения, взаимодействующих с внутренней средой организма человека, способствует повышению качества оказания медицинской помощи пациентам. Для снижения риска развития неблагоприятных последствий для пациентов и осложнений новые изделия должны быть изучены на совместимость с кровью и иметь лучшие результаты изучаемых показателей при оценке гемосовместимости, чем медицинские изделия, которые уже используются в клинической практике в настоящее время

[1–5]. Контакт медицинского изделия с кровью инициирует процессы активации тромбоцитов, лейкоцитов, систем гемостаза и комплемента, которые являются необратимыми [6–9].

Согласно литературным данным для изучения гемосовместимости медицинских изделий *in vitro* условия моделирования и состояние системы гемостаза при контакте с медицинским изделием должны быть максимально приближены к клиническому применению изделий. Поэтому для изучения гемосовместимости медицинских изделий в условиях эксперимента должна использоваться цельная кровь человека, стабилизированная гепарином, в динамических *in vitro* тест-моделях [1, 6, 10–13].

Наиболее перспективной динамической *in vitro* тест-моделью для оценки гемосовместимости является модель искусственного кровотока Haemobile, в которой используются трубки с одноплавленными клапанами, полностью заполненные кровью без воздуха, и отсутствуют механические приспособления, способные оказывать повреждающее действие на форменные элементы крови. Еще одним положительным свойством этой модели является обеспечение движения крови внутри трубок за счет внешнего кругового движения [13]. Однако для разработки метода оценки гемосовместимости *in vitro* медицинских изделий на основании модели Haemobile и его применения необходимо адаптировать данную модель к условиям эксперимента: выбрать трубки из соответствующего материала и определенного диаметра; установить время инкубации с кровью; обосновать положительные и отрицательные контрольные образцы; рассчитать соотношение площади поверхности медицинского изделия к объему крови; определить критерии оценки гемосовместимости.

Таким образом, разработка новых методических подходов для оценки гемосовместимости медицинских изделий с использованием современной *in vitro* тест-модели искусственного кровотока является актуальной и обоснованной.

Цель работы – научно обосновать и разработать динамическую *in vitro* тест-модель искусственного кровотока на основе модели Haemobile для оценки гемосовместимости медицинских изделий с использованием цельной гепаринизированной крови.

Материалы и методы. Забор крови для разработки динамической *in vitro* тест-модели искусственного кровотока был проведен у 10 волонтеров в возрасте от 20 до 33 лет, соотношение женщин и мужчин составило 6 : 4. Перед проведением забора крови для исследований от волонтеров были получены письменные информированные согласия на добровольное участие в научном исследовании, предусматривающем забор крови. Проведение данного экспериментального исследования было одобрено на заседании комиссии по биоэтике республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены» (протокол № 2 от 29.03.2022). Все волонтеры, давшие согласие на участие в научном исследовании, были здоровы и последние 14 дней не принимали никаких лекарственных средств.

До начала эксперимента проводился забор капиллярной крови из пальца и определялись показатели крови (содержание эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, гемоглобина и значение среднего объема тромбоцит) с помощью гематологического автоматического анализатора Mythic 18, Orphee Geneva, Швейцария (Mythic 18).

Забор венозной крови для исследования осуществлялся в локтевом сгибе из центрального сосуда в объеме 180 мл от каждого волонтера, с использованием стерильного устройства для забора крови – игла-бабочка с луер-адаптером размером 21G × 3/4 (Nipro Corporation, Бельгия). Катетер соединялся со шприцем (ОАО «Медпласт», Республика Беларусь), который заранее заполнялся антикоагулянтом, в качестве которого использовался гепарин в дозе 1,5 МЕ/мл (гепарин-белмед, 5000 МЕ/мл, РУП «Белмедпрепараты», Республика Беларусь). Для выполнения исследований брали гепаринизированную венозную кровь от 10 волонтеров, которую помещали в 10 поливинилхлоридных трубок и в 10 силиконовых трубок, длиной 45 см с внутренним диаметром 5 мм заранее оснащенных одноплавленным клапаном (HaemoScan BV, Гронинген, Нидерланды). Каждая трубка заполнялась ~ 9 мл крови без образования пузырьков воздуха. Заполнение трубок цельной венозной кровью осуществлялось при комнатной температуре (20–25 °С). Время от момента забора крови у волонтеров до начала инкубации не должно превышать 50 минут.

В дальнейшем трубки (ПВХ, силиконовые), полностью заполненные гепаринизированной венозной кровью, поочередно устанавливались на платформу Haemobile (HaemoScan BV, Гронинген, Нидерланды [13]). Данная система помещалась в термостат суховоздушный электрический ТС-1/80 (ОАО «Смоленское СКТБ СПУ», Россия) при температуре 37 °С. Вращение осуществлялось по следующим заданным параметрам: угловое ускорение 720 об/с, угловая скорость против часовой стрелки 360 об/с, угловое ускорение/замедление 3600 об/с² без задержек между вращениями в течение 10, 20 и 30 минут. Данная

динамическая *in vitro* тест-модель позволяла также воспроизвести условия, приближенные к физиологическим, в которых осуществляется артериальный кровоток человека в норме.

Для изучения морфофункциональных показателей цельной гепаринизированной венозной крови в *in vitro* тест-модели формировали по 3 опытные группы сравнения образцов крови, полученные в условиях эксперимента из ПВХ трубок и силиконовых трубок (всего 6 групп) и контрольная группа. 1 группа – «пустые» трубки (кровь контактировала с соответствующим материалом, из которого изготовлена трубка; 2 группа – контакт крови осуществлялся со шлифованным стеклом в трубках из соответствующего материала; 3 группа – контакт крови осуществлялся с нешлифованным стеклом в трубках из соответствующего материала. Контролем являлась цельная венозная гепаринизированная кровь, полученная у волонтеров в установленных условиях эксперимента.

Первая группа трубок (ПВХ, силиконовые) – «пустые» являлись отрицательным контролем, вторая и третья группа трубок (ПВХ, силиконовые) – положительным контролем.

Размер нешлифованного и шлифованного (с помощью наждачной бумаги) стекла, которое помещалось в ПВХ и силиконовые трубки, составлял 5 см на 0,5 см. При этом соотношение площади поверхности медицинского изделия к объему крови в положительном контроле должно составлять ~ 0,6 см²/мл.

В венозной гепаринизированной крови определяли содержание тромбоцитов (далее – PLT), лейкоцитов (далее – WBC), эритроцитов (далее – RBC), содержание гемоглобина (далее – HGB), средний объем тромбоцитов (далее – MPV) с помощью метода проточной цитометрии с использованием прибора Mythic 18. Количественные изменения содержания лейкоцитов и тромбоцитов являлись маркерами процессов активации тромбообразования в крови.

Плазму крови для проведения исследований получали путем центрифугирования цельной крови в течение 15 минут при 10 000 оборотах в минуту на центрифуге медицинской лабораторной «Armed»: 80-2S, Россия. Параметры коагуляции определяли в плазме крови с помощью наборов для иммуноферментного анализа фирмы ELISA Kit Elabscience, США и ВЕКТОР-БЕСТ, Россия на автоматическом фотометре для микропланшетов «EIX808», США.

Коэффициент разбавления плазмы со стандартным разбавителем составил 1 : 2. Определяли следующие показатели коагуляции: фрагмента протромбина F1+2 (F1+2), TAT III и D-димер (далее – D-dimer).

Об активации тромбоцитов судили по показателям содержания бета-тромбоглобулина (далее – β -TG), тромбоксана B2 (далее – TxB2) и тромбоцитарного фактора роста BB (далее – PGDF-BB). Состояние системы комплемента определяли по белкам расщепления компонента комплемента C3 на C3a и разрезания компонента комплемента C5 на C5a. В плазме крови определяли уровень свободного гемоглобина (Free Hb).

Статистический анализ полученных результатов проводили по непараметрическому U-критерию Манна – Уитни с использованием программ Microsoft Excel и Statistica 13. Результаты анализа представляли в виде медианы (далее – Me) в интерквартильном диапазоне [P₂₅; P₇₅]. Статистически значимыми считали результаты при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Во всех образцах крови, находящейся в ПВХ трубках, после инкубации в течение 10 минут не установлено статистически значимых различий по сравнению с контрольной группой по всем изучаемым показателям (таблица 1).

При инкубации цельной гепаринизированной крови, находящейся в силиконовых трубках, в течение 10 минут, во всех образцах крови выявлено статистически значимое снижение количества тромбоцитов на 18,8–19,7 % ($p < 0,05$) и лейкоцитов на 11,6 % ($p < 0,05$), увеличение содержания бета-тромбоглобулина и тромбоксана B2 на 47,1–52,9 % ($p < 0,001$) и 53,1–64,2 % ($p < 0,001$) соответственно по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует об активации форменных элементов крови и тромбоцитов. Установлена инициация процессов коагуляции крови в опытных образцах, о чем свидетельствует статистически значимое повышение содержания в плазме крови фрагмента протромбина F1+2 и TAT III соответственно на 15,7–18,3 % ($p < 0,05$) на 42,7–47,6 % ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. Отмечалась активация системы комплемента. Выявлено увеличение уровня белка расщепления компонента C3a на 22,1–22,7 % ($p < 0,001$) по сравнению с контролем во всех образцах крови, находящихся в силиконовых трубках. Статистически значимых различий других изучаемых показателей в данных экспериментальных группах по сравнению с контролем не установлено (таблица 1).

После инкубации крови в течение 20 минут морфофункциональные показатели цельной гепаринизированной крови, взятой из ПВХ трубок со шлифованным стеклом, статистически значимо отличались от контроля и образцов крови в «пустых» ПВХ трубах по ряду изучаемых показателей. Установлено снижение содержания тромбоцитов на 6,3–8,0 % ($p < 0,001$) и лейкоцитов на 8,6–11,6 % ($p < 0,001$),

Таблица 1 – Морфофункциональные показатели цельной гепаринизированной венозной крови после 10 минут инкубации *in vitro* тест-модели, Me [P₂₅; P₇₅]

Показатель, единицы измерения	Группы сравнения							
	контроль	ПВХ			Силикон			
		«пустые»	стекло шлифованное	стекло нешлифованное	«пустые»	стекло шлифованное	стекло нешлифованное	
PLT, 10 ⁹	223 [218; 227]	221 [215; 225]	220 [215; 225]	221 [205; 225]	181 [171; 187]*	180 [172; 187]*	179 [171; 185]*	
MPV, фл	9,2 [9,1; 9,5]	9,2 [9,0; 9,5]	9,1 [9,0; 9,2]	9,2 [9,0; 9,5]	9,3 [8,9; 9,7]	9,2 [9,2; 9,5]	9,2 [8,9; 9,5]	
HGB, г/л	130 [128; 146]	134 [130; 144]	133 [130; 136]	129 [128; 136]	134 [132; 136]	134 [129; 140]	132 [129; 139]	
WBC, 10 ³	6,0 [5,8; 6,0]	5,9 [5,8; 6,1]	5,9 [5,8; 6,0]	5,9 [5,8; 6,0]	5,3 [5,2; 5,4]*	5,3 [5,2; 5,4]*	5,3 [5,2; 5,4]*	
RBC, 10 ¹²	5,0 [4,9; 5,1]	5,0 [4,8; 5,1]	5,0 [4,8; 5,1]	4,9 [4,8; 5,0]	5,0 [4,7; 5,1]	5,0 [4,8; 5,0]	4,9 [4,7; 5,0]	
Free Hb, нг/мл	223 [220; 225]	222 [221; 223]	222 [220; 224]	222 [219; 224]	221 [220; 223]	223 [219; 225]	220 [220; 221]	
D-dimer, нг/мл	209 [188; 214]	209 [198; 220]	203 [187; 219]	205 [199; 218]	203 [193; 220]	196 [181; 218]	213 [205; 219]	
F1+2, нг/мл	1180 [1045; 1245]	1148 [1045; 1201]	1139 [1123; 1231]	1139 [1123; 1203]	1377 [1354; 1402]*	1396 [1375; 1402]*	1366 [1302; 1394]*	
TAT III, нг/мл	1280,1 [1200,4; 1459,0]	1300,6 [1198,4; 1421,0]	1240,7 [1211,9; 1347,4]	1299,9 [1132,1; 1340,2]	1890,1 [1721,0; 1999,7]*	1842,7 [1721,0; 1999,7]*	1827,7 [1710,9; 1941,7]*	
PGDF-BB, нг/мл	582 [521; 618]	540 [499; 601]	510 [477; 589]	577 [507; 658]	538 [498; 608]	584 [566; 654]	550 [502; 605]	
β-TG, нг/мл	1,7 [1,7; 1,8]	1,7 [1,7; 1,8]	1,8 [1,7; 1,8]	1,8 [1,7; 1,8]	2,5 [2,4; 2,8]*	2,5 [2,3; 2,9]*	2,6 [2,3; 2,7]*	
ТхВ2, нг/мл	12,6 [9,9; 12,9]	12,8 [12,3; 13,9]	13,7 [12,4; 15,2]	13,3 [12,3; 14,2]	19,3 [18,6; 21,7]*	20,7 [20,0; 23,1]*	19,9 [17,9; 21,7]*	
C5a, нг/мл	1888 [1865; 1930]	1893 [1791; 1922]	1849 [1755; 1892]	1823 [1766; 1881]	1911 [1852; 1952]	1885 [1757; 1956]	1858 [1774; 1899]	
C3a, нг/мл	17,6 [15,2; 19,5]	17,9 [15,8; 21,3]	19,0 [14,9; 20,3]	19,1 [17,1; 20,3]	21,6 [20,2; 23,5]*	21,5 [20,3; 23,1]*	21,6 [20,2; 23,5]*	

* Статистически значимые различия с контрольной группой при $p < 0,001$.

увеличение в плазме крови маркеров активации тромбоцитов: бета-тромбоглобулина и тромбоксана В2 на 16,6–23,5 % ($p < 0,001$) и 40,9–47,6 % ($p < 0,001$), соответственно, а также выявлено повышение содержания фрагмента протромбина F1+2 на 14,8–15,7 % ($p < 0,001$) и ТАТ III на 47,6 % ($p < 0,001$). Активация системы комплемента сопровождалась увеличением уровня белка расщепления компонента комплемента С3а на 21,4–31,8 % ($p < 0,001$) (таблица 2).

Все изучаемые показатели гепаринизированной крови в образцах ПВХ трубок с нешлифованным стеклом не имели статистически значимых отличий от аналогичных показателей в образцах крови в «пустых» ПВХ трубках и контрольной группы (таблица 2). Это свидетельствует о менее выраженном воздействии на образцы крови в ПВХ трубках с нешлифованным стеклом по сравнению с образцами крови в ПВХ трубках со шлифованным стеклом и является показателем большей гемосовместимости.

Инкубация цельной гепаринизированной крови, находящейся в силиконовых трубках, в течение 20 минут выявила более выраженную активацию форменных элементов крови, тромбоцитов, изучаемых показателей системы гемостаза и системы комплемента по сравнению с аналогичными показателями при инкубации крови в течение 10 минут. Во всех исследуемых образцах крови, находящейся в силиконовых трубках по сравнению с контролем, установлено статистически значимое снижение содержания тромбоцитов и лейкоцитов на 19,2–19,7 % ($p < 0,05$) и 11,6 % ($p < 0,05$) соответственно. Увеличились количественные значения фрагмента протромбина F1+2 на 18,3–24,8 % ($p < 0,001$), ТАТ III в 2,5–2,6 раза ($p < 0,001$), бета-тромбоглобулина в 2,1 раза ($p < 0,001$) и тромбоксана В2 в 9,1–9,8 раза ($p < 0,001$), повысилось содержание белков расщепления компонентов С3 и С5 на 17,0–25,5 % и 31,0–34,1 % ($p < 0,001$) соответственно.

Статистически значимых различий по остальным изучаемым показателям в образцах крови в «пустых» силиконовых трубках и образцах крови в силиконовых трубках со стеклом по сравнению с контролем не выявлено (таблица 2)

Увеличение инкубации крови в ПВХ трубках до 30 минут способствовало появлению статистически значимых различий по ряду изучаемых показателей (PLT, WBC, F1+2, ТАТ III, β -TG, TxB2) в образцах крови в «пустых» ПВХ трубках, ПВХ трубках со стеклом по сравнению с контролем, а в образцах крови со стеклом и по сравнению с образцами крови в «пустых» ПВХ трубках (таблица 3). Такого рода изменения не отмечались после инкубации крови в течение 20 минут.

Выявлено статистически значимое увеличение содержания в плазме крови белка расщепления компонентов С5а в образцах крови в ПВХ трубках со шлифованным стеклом по сравнению с контролем и по сравнению с группой ПВХ «пустые» на 8,2 % ($p < 0,013$) и 8,1 % ($p < 0,046$) соответственно. В образцах крови в ПВХ трубках с нешлифованным стеклом изменение содержания белка расщепления компонентов С5а не установлено. Увеличивалось содержание в плазме крови белка расщепления компонентов С3а в образцах крови в «пустых» ПВХ трубках и ПВХ трубках со стеклом по сравнению с контролем. Результаты были статистически значимы.

Морфофункциональные показатели, отражающие активацию тромбоцитов: (D-dimer, тромбоцитарный фактор роста ВВ, средний объем тромбоцитов), а также содержание свободного гемоглобина и эритроцитов в изучаемых образцах крови в ПВХ трубках статистически значимо не отличались от контрольной группы, что позволяет отказаться от их определения при оценке гемосовместимости медицинских изделий с использованием цельной гепаринизированной крови в динамической *in vitro* тест-модели искусственного кровотока.

Инкубация цельной гепаринизированной крови в силиконовых трубках в течение 30 минут выявила более выраженные, статистически значимые различия изучаемых показателей морфофункционального состояния крови по сравнению с контрольной группой и с показателями морфофункционального состояния крови в аналогичных группах после инкубации крови в течение 20 минут.

Отмечалось повышение уровня свободного гемоглобина во всех образцах крови силиконовых трубок на 19,2–20,1 % ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой. Статистически значимо увеличивались содержание фрагмента протромбина F1+2 на 11,3 % ($p < 0,003$) и тромбоксана В2 на 13,9 % ($p < 0,027$) в образцах крови в силиконовых трубках со шлифованным стеклом по сравнению с образцами крови в «пустых» силиконовых трубках.

Компоненты комплемента С3а и С5а существенно увеличивались по сравнению с контролем во всех образцах крови силиконовых трубок, $p < 0,001$.

Выявленные изменения показателей морфофункционального состояния крови во всех изучаемых группах силиконовых трубок не позволяют принять их в качестве положительного или отрицательного контроля в связи с тем, что уже через 10 минут инкубации отмечалась высокая степень активации крови в них в *in vitro* тест-модели (таблица 3).

Таблица 2 – Морфофункциональные показатели цельной гепаринизированной крови после 20 минут инкубации в *in vitro* тест-моделе, Me [P_{25'}; P_{75'}]

Показатель, единицы измерения	Группы сравнения							
	контроль	ПВХ		силикон				
		«пустые»	стекло шлифованное	стекло нешлифованное	«пустые»	стекло шлифованное	стекло нешлифованное	
PLT, 10 ⁹	223 [218; 227]	219 [213; 228]	205 [201; 210]*, **	218 [213; 22]	179 [171; 185]*	180 [172; 187]*	180 [172; 187]*	
MPV, фл	9,2 [9,1; 9,5]	9,3 [9,0; 9,5]	9,5 [9,0; 9,6]	9,3 [9,1; 9,4]	9,3 [9,0; 9,5]	9,1 [9,0; 9,3]	9,2 [9,0; 9,5]	
HGB, г/л	130 [128; 146]	131 [130; 139]	132 [130; 140]	139 [130; 140]	136 [129; 148]	141 [132; 147]	131 [128; 146]	
WBC, 10 ³	6,0 [5,8; 6,0]	5,8 [5,7; 6,0]	5,3 [5,2; 5,4]*, **	5,9 [5,7; 6,0]	5,3 [5,2; 5,3]*	5,3 [5,1; 5,3]*	5,3 [5,1; 5,3]*	
RBC, 10 ¹²	5,0 [4,9; 5,1]	5,0 [4,8; 5,0]	5,1 [5,0; 5,2]	4,9 [4,8; 5,0]	5,0 [4,8; 5,1]	4,9 [4,8; 5,0]	5,1 [4,9; 5,1]	
Free Hb, нг/мл	223 [220; 225]	221 [220; 224]	221 [220; 223]	220 [220; 221]	224 [222; 225]	224 [221; 224]	224 [221; 226]	
D-dimer, нг/мл	209 [188; 214]	206 [195; 213]	204 [193; 209]	202 [198; 210]	212 [197; 222]	205 [193; 210]	205 [193; 211]	
F1+2, нг/мл	1180 [1045; 1245]	1189 [1123; 1213]	1366 [1298; 1402]*, **	1207 [1174; 1245]	1400 [1378; 1497]*	1396 [1300; 1497]*	1473 [1378; 1554]*	
TAT III, нг/мл	1280,1 [1200,4; 1459,0]	1280,0 [1209,4; 1421,0]	1890,1 [1812,4; 1991,9]*, **	1321,8 [1297,9; 1421,0]	3436,0 [2999,7; 3800,1]*	3270,7 [2991; 3610,9]*	3336,1 [2999,7; 3710,9]*	
PGDF-BB, нг/мл	582 [521; 618]	606 [587; 655]	635 [592; 666]	533 [489; 643]	647 [556; 693]	565 [532; 603]	599 [541; 649]	
β-TG, нг/мл	1,7 [1,7; 1,8]	1,8 [1,7; 1,8]	2,1 [1,8; 2,2]*, **	1,8 [1,7; 1,8]	3,5 [3,1; 3,6]*	3,5 [3,2; 3,6]*	3,5 [3,2; 3,6]*	
TxB2, нг/мл	12,6 [9,9; 12,9]	13,2 [12,2; 14,4]	18,6 [16,3; 19,2]*, **	13,9 [11,2; 15,2]	115,8 [111,6; 130,2]*	124,2 [120,0; 138,6]*	119,1 [107,4; 130,2]*	
C5a, нг/мл	1888 [1865; 1930]	1810 [1759; 1899]	1837 [1790; 1878]	1887 [1803; 1949]	2508 [2339; 2681]*	2533 [2460; 2713]*	2475 [2322; 2551]*	
C3a, нг/мл	17,6 [15,2; 19,5]	19,1 [17,8; 20,7]	23,2 [21,8; 23,4]*, **	19,1 [17,9; 21,1]	22,0 [20,8; 23,6]*	22,1 [20,7; 24,0]*	20,6 [19,3; 22,2]*	

* статистически значимые различия с контрольной группой при $p < 0,001$;

** статистически значимые различия с группой ПВХ «пустые» при $p < 0,001$.

Таблица 3 – Морфофункциональные показатели цельной гепаринизированной крови после 30 минут инкубации в *in vitro* тест-модели, Me [P₂₅; P₇₅]

Показатель, единицы измерения	Группы сравнения										
	контроль	ПВХ		стекло		«пустые»		силикон		стекло шлифованное	стекло нешлифованное
		«пустые»	шлифованное	стекло шлифованное	стекло нешлифованное	«пустые»	шлифованное	стекло шлифованное			
PLT, 10 ⁹	223 [218; 227]	204 [195; 210]*	175 [170; 189]**	175 [170; 189]**	176 [170; 181]*	175 [170; 180]*	175 [170; 180]*	175 [170; 180]*	175 [170; 180]*	175 [170; 180]*	175 [170; 180]*
MPV, фл	9,2 [9,1; 9,5]	9,4 [9,0; 9,7]	9,2 [9,0; 9,5]	9,1 [8,9; 9,7]	9,5 [9,0; 9,6]	9,4 [9,0; 9,8]	9,4 [9,0; 9,8]	9,4 [9,0; 9,8]	9,3 [9,1; 9,7]	9,3 [9,1; 9,7]	9,3 [9,1; 9,7]
HGB, г/л	130 [128; 146]	141 [132; 147]	138 [130; 140]	133 [130; 136]	134 [132; 144]	136 [130; 147]	136 [130; 147]	136 [130; 147]	130 [129; 133]	130 [129; 133]	130 [129; 133]
WBC, 10 ³	6,0 [5,8; 6,0]	5,7 [5,5; 5,9]*	5,2 [5,2; 5,3]**	5,3 [5,2; 5,3]**	5,2 [5,1; 5,3]*	5,2 [5,0; 5,2]*	5,2 [5,0; 5,2]*	5,2 [5,0; 5,2]*	5,2 [5,0; 5,3]*	5,2 [5,0; 5,3]*	5,2 [5,0; 5,3]*
RBC, 10 ¹²	5,0 [4,9; 5,1]	5,0 [4,7; 5,1]	5,0 [4,7; 5,0]	4,9 [4,7; 5,1]	5,0 [4,8; 5,0]	5,0 [4,7; 5,1]	5,0 [4,7; 5,1]	5,0 [4,7; 5,1]	4,9 [4,8; 5,0]	4,9 [4,8; 5,0]	4,9 [4,8; 5,0]
Free Hb, нг/мл	223 [220; 225]	224 [221; 224]	224 [223; 226]	224 [222; 226]	268 [258; 272]*	268 [259; 272]*	268 [259; 272]*	268 [259; 272]*	266 [257; 274]*	266 [257; 274]*	266 [257; 274]*
D-dimer, нг/мл	209 [188; 214]	198 [189; 221]	199 [190; 203]	212 [196; 220]	199 [186; 216]	211 [190; 217]	211 [190; 217]	211 [190; 217]	193 [188; 201]	193 [188; 201]	193 [188; 201]
F1+2, нг/мл	1180 [1045; 1245]	1383 [1347; 1405]*	1532 [1489; 1604]**	1497 [1445; 1540]**	1396 [1300; 1497]*	1554 [1478; 1664]**	1554 [1478; 1664]**	1554 [1478; 1664]**	1490 [1403; 1533]*	1490 [1403; 1533]*	1490 [1403; 1533]*
TAT III, нг/мл	1280,1 [1200,4; 1459,0]	3190,2 [2940,5; 3319,0]*	4115,0 [3987,5; 4254,4]**	4033,4 [3315,8; 4122,5]**	4102,4 [3878,1; 4650,1]*	4161,7 [4092,1; 4610,9]*	4161,7 [4092,1; 4610,9]*	4161,7 [4092,1; 4610,9]*	4226,0 [4045,5; 4650,1]*	4226,0 [4045,5; 4650,1]*	4226,0 [4045,5; 4650,1]*
PGDF-BB, нг/мл	582 [521; 618]	579 [531; 649]	576 [501; 710]	548 [520; 577]	598 [514; 686]	603 [568; 729]	603 [568; 729]	603 [568; 729]	641 [563; 723]	641 [563; 723]	641 [563; 723]
β-TG, нг/мл	1,7 [1,7; 1,8]	2,1 [3,0; 2,2]*	2,8 [2,6; 3,1]**	2,5 [2,3; 2,8]**	3,6 [3,4; 3,8]*	3,6 [3,5; 3,8]*	3,6 [3,5; 3,8]*	3,6 [3,5; 3,8]*	3,6 [3,4; 3,8]*	3,6 [3,4; 3,8]*	3,6 [3,4; 3,8]*
TxB2, нг/мл	12,6 [9,9; 12,9]	120,8 [98,9; 125,9]*	221,2 [210,5; 227,9]**	194,3 [180,1; 221,7]**	196,9 [189,7; 221,3]*	224,4 [211,1; 241,5]**	224,4 [211,1; 241,5]**	224,4 [211,1; 241,5]**	202,5 [182,6; 221,3]*	202,5 [182,6; 221,3]*	202,5 [182,6; 221,3]*
C5a, нг/мл	1888 [1865; 1930]	1890 [1851; 1951]	2044 [1889; 2096]****	1938 [1831; 2002]	3042 [2920; 3150]*	3106 [3087; 3188]*	3106 [3087; 3188]*	3106 [3087; 3188]*	3070 [2968; 3198]*	3070 [2968; 3198]*	3070 [2968; 3198]*
C3a, нг/мл	17,6 [15,2; 19,5]	20,2 [18,9; 21,8]***	23,7 [22,3; 23,9]**	19,3 [18,1; 22,3]*	23,7 [22,5; 25,3]*	23,8 [22,4; 25,7]*	23,8 [22,4; 25,7]*	23,8 [22,4; 25,7]*	23,0 [21,1; 23,9]*	23,0 [21,1; 23,9]*	23,0 [21,1; 23,9]*

* Статистически значимые различия с контрольной группой при $p < 0,001$;

** Статистически значимые различия с группой ПВХ «пустые» при $p < 0,001$;

*** Статистически значимые различия с контрольной группой при $p < 0,013$;

**** Статистически значимые различия с группой ПВХ «пустые» при $p < 0,046$;

***** Статистически значимые различия с группой силикон «пустые» при $p < 0,027$;

***** Статистически значимые различия с группой силикон «пустые» при $p < 0,003$.

Заключение. Для снижения риска развития неблагоприятных последствий и осложнений для пациентов в клинических условиях при применении медицинских изделий, контактирующих с кровью, разработана динамическая *in vitro* тест-модель искусственного кровотока для оценки гемосовместимости медицинских изделий с использованием цельной гепаринизированной крови.

Экспериментально установлены следующие условия *in vitro* моделирования: время от момента забора крови у волонтеров до начала инкубации должно составлять не более 50 минут при температуре 20–25 °С; длительность инкубации крови в ПВХ трубках длиной 45 см и диаметром 5 мм на Haemobile должна составлять 20 минут при температуре 37 °С; в качестве отрицательного контроля предложено использование «пустых» ПВХ трубок; в качестве положительного контроля – ПВХ трубок со шлифованным стеклом; соотношение площади поверхности медицинского изделия к объему крови в положительном контроле должно составлять ~ 0,6 см²/мл. Приоритетными критериями оценки гемосовместимости *in vitro* являются: количество тромбоцитов и лейкоцитов, фрагмент протромбина F1+2, ТАТ III, бета-тромбоглобулин, тромбоксан В2 и белок расщепления комплемента С3а.

Разработанная динамическая *in vitro* тест-модель искусственного кровотока требует дальнейшей апробации на медицинских изделиях различного назначения и материалов изготовления.

Сведения о НИР. НИР «Разработать метод оценки гемосовместимости *in vitro* изделий медицинского назначения на основе тест-модели искусственного кровотока» подпрограммы «Безопасность среды обитания человека» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», 2021–2025 гг., регистрационный номер 20220371.

Литература

1. Hemocompatibility testing of blood-contacting implants in a flow loop model mimicking human blood flow / A. Link, G. Cattaneo, E. Brynda [et al.] // *Journal of Visualized Experiments*. – 2020. – Vol. 157. – DOI: 10.3791/60610.

2. Product evaluation: blood compatibility studies / A. Bhatt, R. Nair, R. Ramakrishnan [et al.] // *Biomedical product and materials evaluation* / ed. P. V. Mohanan. – Sawston, 2022. – P. 435–459.

3. Schmaier, A. H. The contact activation and kallikrein/kinin systems: pathophysiologic and physiologic activities / A. H. Schmaier // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2016. – Vol. 14, № 1. – P. 28–39.

4. In vitro hemocompatibility evaluation of poly (4-hydroxybutyrate) scaffold / Y. Liu, D. Cai, J. Yang [et al.] // *International Journal of Clinical & Experimental Medicine*. – 2014. – Vol. 7, № 5. – P. 1233–1243.

5. Bai, M. Y. Preclinical studies of non-stick thin film metallic glass-coated syringe needles / M. Y. Bai, Y. C. Chang, J. P. Chu // *Scientific Reports*. – 2020. – Vol. 10, № 1. – DOI: 10.1038/s41598-020-77008-y.

6. Jaffer, I. H. The blood compatibility challenge. Part 1: blood-contacting medical devices: the scope of the problem / I. H. Jaffer, J. I. Weitz // *Acta Biomaterialia*. – 2019. – Vol. 94. – P. 2–10.

7. Braune, S. Developing standard and test protocols for testing the hemocompatibility of biomaterials / S. Braune, A. Lendlein, F. Jung // *Hemocompatibility of biomaterials for clinical applications: blood – biomaterials interaction* / ed. C. Siedlecki. – Duxford, 2018. – P. 51–76.

8. Особенности определения эквивалентности генерических пестицидных продуктов / И. И. Ильюкова, В. А. Грынчак, М. В. Анисович [и др.] // *Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены ; гл. ред.: С. И. Сычик. – Минск, 2016. – Вып. 26. – С. 225–228.*

9. Научное обоснование гигиенических регламентов содержания пиколинафена в среде обитания человека / В. А. Грынчак, И. И. Ильюкова, С. И. Сычик // *Токсикологический вестник* – 2019. – № 6. – С. 50–55.

10. An in vitro hemodynamic loop model to investigate the hemocytocompatibility and host cell activation of vascular medical devices / M. Wacker, U. Betke, K. Borucki [et al.] // *Journal of Visualized Experiments*. – 2020. – Vol. 162. – DOI: 10.3791/61570. PMID: 32894265.

11. Blok, L. J. S. In vitro hemocompatibility testing: the importance of fresh blood / L. J. S. Blok, G. E. Engels, W. van Oeveren // *Biointerphases*. – 2016. – Vol. 11, № 2. – DOI: 10.1116/1.4941850.

12. Sarode D. N., Roy S. In Vitro models for thrombogenicity testing of blood-recirculating medical devices // *Expert Review of Medical Devices*. – 2019. – Vol. 16, № 7. – P.603–616.

13. Gerwin, E. E. *In vitro* blood flow model with physiological wall shear stress for hemocompatibility testing – An example of coronary stent testing / E. E. Gerwin, L. J. B. Sjoerd, O. van Willem // *Biointerphases*. – 2016. – Vol. 11, № 3. – DOI: 10.1116/1.4958979.

DEVELOPMENT OF A DYNAMIC IN VITRO TEST MODEL OF ARTIFICIAL BLOOD FLOW FOR ASSESSING THE HEMOCOMPATIBILITY OF MEDICAL DEVICES

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

A dynamic *in vitro* test model of artificial blood flow based on the Haemobile model has been developed. It allows to assess the hemocompatibility of medical devices that use heparinized whole human blood. Optimal conditions for *in vitro* modeling have been established: the time from the moment of blood sampling from volunteers to the start of incubation is no more than 50 minutes at a temperature of 20–25 °C; incubation duration on Haemobile is 20 minutes at a temperature of 37 °C. To determine the morphofunctional state of blood in the experiment, polyvinyl chloride (hereinafter – PVC) tubes should be used. The length of PVC pipes is 45 cm, diameter is 5 mm. The priority indicators for hemocompatibility assessment are: platelet and leukocyte counts, prothrombin fragment F1+2, thrombin-antithrombin complex III, beta-thromboglobulin, thromboxane B2 and complement cleavage protein C3a. Negative control - blood samples in «empty» PVC tubes, positive control – blood samples in PVC tubes with ground glass were experimentally substantiated. The ratio of the surface area of the medical device to the volume of blood in the positive control should be ~ 0.6 cm²/ml.

Keywords: dynamic *in vitro* test model, hemocompatibility, human blood, medical devices, coagulation, platelets, leukocytes.

References

1. Link A., Cattaneo G., Brynda E. et al. Hemocompatibility testing of blood-contacting implants in a flow loop model mimicking human blood flow. *J Vis Exp.* 2020; 157. DOI: 10.3791/60610.
2. Bhatt A., Nair R., Ramakrishnan R. et al. Product evaluation: blood compatibility studies In: Mohanan P.V. ed. Biomedical product and materials evaluation. Sawston; 2022: 435–59.
3. Schmaier, A. H. The contact activation and kallikrein/kinin systems: pathophysiologic and physiologic activities. *J Thromb Haemost.* 2016; 14(1):28–39.
4. Liu Y., Cai D., Yang J. et al. In vitro hemocompatibility evaluation of poly (4-hydroxybutyrate) scaffold. *Int J Clin Exp Med.* 2014; 7(5): 1233–43.
5. Bai M. Y., Chang Y. C., Chu J. P. Preclinical studies of non-stick thin film metallic glass-coated syringe needles. *Sci Rep.* 2020; 10(1). DOI: 10.1038/s41598-020-77008-y.
6. Jaffer I. H., Weitz J. I. The blood compatibility challenge. Part 1: blood-contacting medical devices: the scope of the problem *Acta Biomaterialia.* 2019; 94: 2–10.
7. Braune S., Lendlein A., Jung F. Developing standard and test protocols for testing the hemocompatibility of biomaterials. In: Siedlecki C. ed. Hemocompatibility of biomaterials for clinical applications: blood – biomaterials interaction. Duxford, 2018; 51–76.
8. Ilyukova I. I., Grinchak V. A., Anisovich M. V. et al. Features of determining the equivalence of generic pesticide products. In: Sychik S. I., chief ed. *Zdorov'e i okruzayushaya sreda* (Health and the environment): Collection of scientific papers of the Scientific Practical Centre of Hygiene. Iss. 26. Minsk; 2016: 225–8. (In Russian)
9. Grinchak V. A., Ilyukova I. I., Sychik S. I. Scientific substantiation of hygienic regulations for the content of picolinafen in the human environment. *Toxicol Rev.* 2019; 6: 50–5. (In Russian)
10. Wacker M., Betke U., Borucki K. et al. An in vitro hemodynamic loop model to investigate the hemocytocompatibility and host cell activation of vascular medical devices. *J Vis Exp.* 2020; 21(162). DOI: 10.3791/61570. PMID: 32894265.
11. Blok L. J. S., Engels G. E., van Oeveren W. In vitro hemocompatibility testing: the importance of fresh blood. *Biointerphases.* 2016; 11(2). DOI: 10.1116/1.4941850.
12. Sarode D. N., Roy S. In Vitro models for thrombogenicity testing of blood-recirculating medical devices. *Expert Rev Med Devices.* 2019; 16(7): 603–16.
13. Gerwin E. E., Sjoerd L. J. B., van Willem O. In vitro blood flow model with physiological wall shear stress for hemocompatibility testing – an example of coronary stent testing. *Biointerphases.* 2016; 11(3). DOI: 10.1116/1.4958979.

e-mail для переписки: lida_lappo@bk.ru

Поступила 07.10.2024

Лапно Л. Г., Сычик С. И., Грынчак В. А.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЦЕЛЬНОЙ КОНСЕРВИРОВАННОЙ КРОВИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ГЕМОСОВМЕСТИМОСТИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ *IN VITRO*

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. В настоящем исследовании представлены результаты экспериментов по использованию цельной консервированной донорской крови человека в *in vitro* тест-модели искусственного кровотока, применяемой для изучения гемосовместимости медицинских изделий. Установлено, что использование цельной консервированной донорской крови в *in vitro* тест-модели для изучения гемосовместимости изделий медицинского назначения не является целесообразным в связи с высокой стабильностью крови, обусловленной содержанием в ней гемоконсерванта. Предпочтительным является применение цельной гепаринизированной крови сразу после ее забора у доноров. Экспериментально обосновано использование в *in vitro* тест-модели искусственного кровотока трубок из поливинилхлорида, как более гемосовместимых, по сравнению с трубками из силикона.

Лимитирующими показателями оценки гемосовместимости медицинских изделий в данном исследовании являются: количество тромбоцитов, фрагмент протромбина F1+2, тромбин-антитромбиновый комплекс III, бета-тромбоглобулин, тромбоксан B2, белки расщепления компонентов комплемента C3a и C5a.

Ключевые слова: цельная консервированная кровь, *in vitro* тест-модель, тромбоциты, коагуляция, система комплемента, гемосовместимость, изделия медицинского назначения.

Введение. Гемосовместимость медицинских изделий определяется как способность изделий оставаться в контакте с кровью на протяжении всего периода клинического применения без изменения крови или ее компонентов, что является важным условием сохранения постоянного состава внутренней среды организма [1–4].

Для снижения риска развития неблагоприятных последствий и осложнений у пациентов при применении изделий медицинского назначения, контактирующих с внутренней средой организма, необходимо проведение их испытаний на гемосовместимость.

В клинической практике для снижения рисков неблагоприятных последствий, обусловленных использованием недостаточно совместимых с кровью медицинских изделий, используются антикоагулянты и антиагреганты, однако их применение в больших дозах может привести к появлению внутренних кровотечений у пациентов [1, 4–7]. Поверхность медицинского изделия, совместимая с кровью, не вызывает воспалительную реакцию, адгезию и активацию тромбоцитов, является тромбогенной и способствует заживлению раны [1, 2, 7–9].

Для изучения совместимости с кровью новых материалов и изделий медицинского назначения используют релевантные скрининговые *in vitro* тест-модели, имитирующие условия эксплуатации медицинских изделий при применении их по назначению. Примером такой модели является тест-модель искусственного кровотока Haemobile [10, 11]. Она воспроизводит условия, в которых осуществляется движение крови по сосудам у человека в норме.

В модели искусственного кровотока Haemobile применяются трубки с однонаправленными клапанами, отсутствуют механические приспособления, способные оказывать повреждающее действие на форменные элементы крови, обеспечивается внешнее круговое движение крови внутри трубок.

Согласно литературным данным и международному стандарту ISO 10993-4:2017 «Оценка биологического действия медицинских изделий. Исследования изделий, взаимодействующих с кровью» для изучения гемосовместимости медицинских изделий *in vitro* используют цельную донорскую кровь человека с гепарином [11].

Представляет интерес изучение применения цельной консервированной донорской крови человека для оценки гемосовместимости медицинских изделий в *in vitro* тест-модели искусственного кровотока. Выполнение такого рода исследований ранее не проводилось, что определило актуальность и цель настоящей работы.

Цель работы – изучить в условиях эксперимента в *in vitro* тест-модели искусственного кровотока использование цельной консервированной донорской крови человека для оценки гемосовместимости медицинских изделий.

Материалы и методы. Для выполнения экспериментальных исследований государственным учреждением «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий» была предоставлена цельная консервированная донорская кровь от 3-х доноров в трех поливинилхлоридных пакетах по 450 мл в каждом. По информации вышеуказанной организации для обеспечения стабилизации крови в каждый такой пакет добавлялось по 63 мл гемоконсерванта (CPDA-1), препятствующего свертыванию крови, и содержащего необходимые питательные вещества, обеспечивающие поддержание метаболизма и стабилизацию клеток крови в период хранения. В состав гемоконсерванта CPDA-1 входили следующие компоненты: цитрат натрия – 1,66 г; лимонная кислота – 0,206 г; декстроза – 2,00 г; натрия бифосфат – 0,139 г; адреналин – 0,0173 г. Перед транспортировкой были проведены лабораторные исследования крови для контроля по показателям качества.

Условия транспортировки и хранения консервированной крови полностью соответствовали всем необходимым требованиям.

Комиссия по биоэтике республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены» одобрила проведение данной научной работы (протокол от 29.03.2022 № 2).

Перед проведением эксперимента консервированную кровь, содержащуюся в пакетах, перенесли в поливинилхлоридные (далее – ПВХ) и силиконовые трубки длиной 45 см и внутренним диаметром 5 мм, оснащенные однонаправленным клапаном (HaemoScan BV, Гронинген, Нидерланды). Трубки заполнялись с помощью шприцов (ОАО «Медпласт», Республика Беларусь) таким образом, чтобы в них не было воздушных пузырьков. Каждая трубка заполнялась примерно ~ 9 мл крови.

Для изучения морфофункциональных показателей донорской крови в *in vitro* тест-модели формировали по 3 опытные группы сравнения образцов крови, полученные в условиях эксперимента из ПВХ трубок и силиконовых трубок (всего 6 групп) и контрольная группа. Первая группа – «пустые» трубки – кровь контактировала с соответствующим материалом, из которого изготовлена трубка; вторая группа – контакт крови осуществлялся со шлифованным стеклом в трубках из соответствующего материала; третья группа – контакт крови осуществлялся с нешлифованным стеклом в трубках из соответствующего материала.

Контролем являлась цельная консервированная донорская кровь до инкубации в *in vitro* тест-модели.

Каждая экспериментальная группа состояла примерно из 10 трубок, ПВХ и силиконовых, заполненных цельной консервированной кровью (по 3 или 4 трубки с кровью от каждого донора).

В опытные ПВХ и силиконовые трубки помещали шлифованное (с помощью наждачной бумаги) и нешлифованное стекло, размером 5 см на 0,5 см, в результате чего соотношение поверхности стекла к объему крови составляло ~ 0,6 см²/мл.

В дальнейшем трубки, полностью заполненные донорской кровью, поочередно помещались на платформу Haemobile (HaemoScan BV, Гронинген, Нидерланды [11]), затем вся система размещалась в термостате электрическом суховоздушном ТС-1/80 (ОАО «Смоленское СКТБ СПУ», Россия), в котором осуществлялось вращение трубок при температуре 37 °С на протяжении 30 и 60 минут. Параметры вращения на платформе Haemobile: угловое ускорение 720 об/с, угловая скорость против часовой стрелки 360 об/с, угловое ускорение/замедление 3600 об/с² без задержек между вращениями.

Данная тест-модель искусственного кровотока позволяет также воспроизвести условия, приближенные к физиологическим, в которых осуществляется движение крови по сосудам у человека в норме.

В образцах донорской крови определяли содержание тромбоцитов (далее – PLT), лейкоцитов (далее – WBC), эритроцитов (далее – RBC), гемоглобина (далее – HGB) и средний объем тромбоцитов (далее – MPV) методом проточной цитометрии с использованием гематологического анализатора Mythic 18, Orphee Geneva, Швейцария.

По количественному изменению содержания форменных элементов крови и тромбоцитов судили о наличии процессов активации тромбообразования в крови.

С помощью наборов для иммуноферментного анализа фирмы ELISA Kit Elabscience, США и ВЕКТОР-БЕСТ, Россия, на автоматическом фотометре для микропланшетов «EIX808», США, в плазме крови определяли следующие параметры коагуляции: фрагмент протромбина F1+2 (F1+2),

тромбин-антитромбиновый комплекс III (далее – TAT III) и D-димер (далее – D-dimer). Плазма крови разводилась стандартным разбавителем в соотношении 1 : 2.

Для проведения иммуноферментного анализа, цельную донорскую кровь предварительно центрифугировали на 10 000 оборотах в минуту на протяжении 15 минут (центрифуга медицинская лабораторная «Armed»: 80-2S, Россия).

Об активации тромбоцитов судили по показателям содержания бета-тромбоглобулина (далее – β -TG), тромбосана B2 (далее – TxB2) и тромбоцитарного фактора роста BB (PGDF-BB). Состояние системы комплемента определяли по белкам расщепления компонента комплемента C3 на C3a и разрезания компонента комплемента C5 на C5a. В плазме крови определяли уровень свободного гемоглобина (далее – Free Hb).

Статистический анализ полученных результатов проводили по непараметрическому критерию Манна – Уитни с использованием программ Microsoft Excel и Statistica 13. Результаты анализа представляли в виде медианы (далее – Me) в интерквартильном диапазоне [далее – P_{25} ; P_{75}]. Статистически значимыми считали результаты при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. После 30 минутной инкубации цельной консервированной крови при 37 °C во всех образцах крови, содержащейся в ПВХ трубках, не установлено статистически значимых различий по показателям коагуляции, активации форменных элементов и системы комплемента по сравнению с контролем. Отсутствовали статистически значимые различия между образцами крови в «пустых» ПВХ трубках и ПВХ трубках со стеклом, что указывает на стабильность консервированной донорской крови в ПВХ трубках при данных условиях моделирования (таблица 1).

После 30 минутной инкубации цельной консервированной крови при 37 °C во всех образцах крови, содержащейся в силиконовых трубках, в «пустых» и со стеклом, не установлено статистически значимых различий по всем определяемым морфофункциональным показателям крови по сравнению с контролем, за исключением компонента C3a комплемента. Отмечалось увеличение его содержания в образцах крови в группах «пустые» и в трубках с нешлифованным стеклом на 22,5 % ($p < 0,001$), в трубках со шлифованным стеклом – на 22,0 % ($p < 0,001$) по сравнению с контролем (таблица 1).

В данной серии экспериментов после инкубации крови в течение 30 минут выявлено, что:

содержащееся в ПВХ трубках шлифованное и нешлифованное стекло не оказывало негативного воздействия на все изучаемые морфофункциональные показатели консервированной донорской крови после 30-минутной инкубации при 37 °C;

содержащееся в силиконовых трубках шлифованное и нешлифованное стекло не оказывало негативного воздействия на все изучаемые морфофункциональные показатели консервированной донорской крови после 30-минутной инкубации при 37 °C, за исключением компонента комплемента C3a, активация которого отмечалась в данных условиях эксперимента;

трубки из поливинилхлорида являются более гемосовместимыми, по сравнению с силиконовыми по показателю компонента комплемента C3a, который является в данных условиях эксперимента лимитирующим;

определение компонента комплемента C3a является приоритетным при проведении исследований по оценке гемосовместимости медицинских изделий *in vitro* при применении консервированной донорской крови.

При увеличении продолжительности инкубации крови до 60 минут отмечались следующие изменения изучаемых показателей в экспериментальных группах. В «пустых» ПВХ трубках наблюдалась активация тромбоцитов, о чем свидетельствует снижение их количества в крови (на 12,9 %, $p < 0,01$); повышение содержания в плазме крови бета-тромбоглобулина и тромбосана B2 на 30,8 и 43,8 % ($p < 0,001$) соответственно; а также инициация системы комплемента: увеличивалось содержание белков расщепления компонента комплемента C3a на 18,8 % ($p < 0,001$) и компонента комплемента C5a на 12,9 % ($p < 0,001$) по сравнению с контролем.

Инкубация крови в ПВХ трубках со стеклом (шлифованным и нешлифованным) приводила к снижению содержания тромбоцитов на 12,9–13,5 % ($p < 0,007$). При этом в плазме крови увеличивалось количество бета-тромбоглобулина и тромбосана B2 на 32,9–36,1 % ($p < 0,001$) и 47,9–54,3 % ($p < 0,001$) соответственно. Также статистически значимо повысилось содержание белков расщепления компонентов комплемента C3a и C5a на 19,3 % ($p < 0,001$) и 9,6–10,8 % ($p < 0,001$) соответственно. Все показатели сравнивались с контролем (таблица 2).

Таблица 1 – Морфофункциональные показатели цельной консервированной донорской крови после 30 минут инкубации в *in vitro* тест-модели, Me [P₂₅; P₇₅]

Показатель, единицы измерения	Группы сравнения							
	контроль	ПВХ		стекло		силикон		стекло нешлифованное
		«пустые»	стекло шлифованное	стекло нешлифованное	«пустые»	стекло шлифованное	стекло нешлифованное	
PLT, 10 ⁹	162 [157; 166]	160 [154; 164]	159 [154; 164]	160 [144; 164]	160 [155; 164]	158 [152; 162]	157 [152; 162]	
MPV, фл	7,4 [7,3; 7,7]	7,4 [7,2; 7,7]	7,3 [7,2; 7,4]	7,4 [7,2; 7,7]	7,5 [7,1; 7,9]	7,4 [7,4; 7,7]	7,4 [7,1; 7,7]	
HGB, г/л	121 [119; 137]	125 [121; 135]	124 [121; 127]	120 [119; 127]	125 [123; 127]	125 [120; 131]	123 [120; 130]	
WBC, 10 ³	5,4 [5,2; 5,4]	5,3 [5,3; 5,5]	5,3 [5,2; 5,4]	5,3 [5,2; 5,4]	5,3 [5,2; 5,3]	5,3 [5,2; 5,4]	5,3 [5,2; 5,3]	
RBC, 10 ¹²	4,2 [4,1; 4,3]	4,2 [4,0; 4,3]	4,2 [4,0; 4,3]	4,1 [4,0; 4,2]	4,2 [3,9; 4,3]	4,2 [4,0; 4,2]	4,1 [3,9; 4,2]	
Free Hb, нг/мл	211 [208; 213]	210 [209; 211]	210 [208; 212]	210 [207; 212]	209 [208; 2011]	211 [207; 213]	208 [208; 209]	
D-dimer, нг/мл	236 [215; 241]	242 [231; 253]	236 [220; 252]	238 [232; 251]	236 [226; 253]	229 [214; 251]	240 [233; 246]	
F1+2, нг/мл	2243 [1986; 2366]	2180 [1986; 2282]	2163 [2134; 2339]	2163 [2134; 2286]	2290 [2027; 2415]	2226 [2027; 2330]	2209 [2179; 2388]	
TAT III, нг/мл	2688,1 [2520,8; 3063,9]	2757,3 [2540,6; 3012,5]	2630,2 [2569,2; 2856,5]	2755,8 [2400,1; 2841,2]	2828,9 [2652,9; 3224,4]	2887,3 [2660,4; 3154,6]	2754,2 [2690,4; 2991,2]	
β-TG, нг/мл	9,4 [9,4; 9,9]	9,4 [9,4; 9,9]	9,6 [9,4; 9,9]	9,6 [9,4; 9,9]	9,5 [9,5; 10,1]	9,8 [9,5; 10,1]	9,5 [9,5; 10,1]	
ТхВ2, нг/мл	116,7 [92,1; 120,0]	119,9 [115,6; 130,7]	118,4 [103,2; 130,1]	125,0 [115,6; 133,5]	121,1 [116,9; 132,1]	123,6 [102,4; 141,9]	126,4 [116,4; 134,9]	
C5a, нг/мл	2089 [2066; 2131]	2144 [2042; 2173]	2100 [2006; 2143]	2074 [2017; 2132]	2152 [2021; 2193]	2136 [2008; 2207]	2109 [2025; 2150]	
C3a, нг/мл	18,6 [16,2; 20,5]	18,9 [16,8; 22,3]	20,0 [15,9; 21,3]	20,1 [18,1; 21,3]	22,8 [21,4; 24,7]*	22,7 [21,5; 24,3]*	22,8 [21,4; 24,7]*	

* статистически значимые различия с контрольной группой при $p < 0,001$.

Таблица 2 – Морфофункциональные показатели цельной консервированной донорской крови после 60 минут инкубации в *in vitro* тест-модели, Me [P₂₅; P₇₅]

Показатель, единицы измерения	Группы сравнения									
	контроль	ПВХ				силикон				
		«пустые»	стекло шлифованное	стекло нешлифованное	«пустые»	стекло шлифованное	стекло нешлифованное	«пустые»	стекло шлифованное	стекло нешлифованное
PLT, 10 ⁹	162 [157; 166]	141 [135; 145]*	140 [135; 145]**	141 [125; 145]**	129 [124; 133]***	127 [121; 131]***	126 [121; 131]***			
MPV, фл	7,4 [7,3; 7,7]	7,5 [7,2; 7,7]	7,7 [7,2; 7,8]	7,5 [7,3; 7,6]	7,5 [7,2; 7,7]	7,3 [7,2; 7,5]	7,4 [7,2; 7,7]			
HGB, г/л	121 [119; 137]	122 [121; 130]	123 [121; 131]	130 [121; 131]	127 [120; 139]	132 [123; 138]	122 [119; 137]			
WBC, 10 ³	5,4 [5,2; 5,4]	5,2 [5,0; 5,4]	5,2 [5,1; 5,4]	5,2 [5,2; 5,5]	5,2 [5,1; 5,2]	5,1 [5,1; 5,2]	5,2 [5,1; 5,2]			
RBC, 10 ¹²	4,2 [4,1; 4,3]	4,2 [4,0; 4,2]	4,3 [4,2; 4,4]	4,1 [4,0; 4,2]	4,2 [4,0; 4,3]	4,1 [4,0; 4,2]	4,3 [4,1; 4,3]			
Free Hb, нг/мл	211 [208; 213]	209 [208; 212]	209 [208; 211]	208 [208; 209]	212 [212; 213]	212 [209; 212]	212 [209; 214]			
D-dimer, нг/мл	236 [215; 241]	243 [232; 250]	241 [230; 246]	239 [235; 247]	238 [220; 252]	242 [230; 247]	242 [230; 248]			
F1+2, нг/мл	2243 [1986; 2366]	2243 [2212; 2425]	2243 [2212; 2370]	2404 [2108; 2586]	2652 [2470; 2844]***	2755 [2564; 2811]***	2831 [2666; 2913]***			
TAT III, нг/мл	2688,1 [2520,8; 3063,9]	2900,3 [2672,4; 3168,8]	2766,6 [2702,5; 3004,7]	2898,8 [2524,6; 2988,6]	3539,0 [3089,7; 3914,1]***	3368,8 [3087,0; 3719,2]***	3436,1 [3089,7; 3822,2]***			
β-TG, нг/мл	9,4 [9,4; 9,9]	12,3 [12,0; 14,0]***	12,5 [11,5; 14,5]***	12,8 [11,5; 13,5]***	12,5 [12,2; 14,3]***	12,8 [11,7; 14,8]***	12,9 [11,7; 13,2]***			
TxB2, нг/мл	116,7 [92,1; 120,0]	1679 [161,8; 188,8]***	180,1 [174,0; 201,0]***	172,7 [155,7; 188,8]***	173,7 [167,4; 195,3]***	186,3 [180,0; 207,9]***	178,7 [161,1; 195,3]***			
C5a, нг/мл	2089 [2066; 2131]	2360 [2258; 2389]***	2316 [2222; 2359]***	2290 [2233; 2348]***	2378 [2319; 2419]***	2352 [2224; 2423]***	2325 [2241; 2366]***			
C3a, нг/мл	18,6 [16,2; 20,5]	22,1 [20,9; 23,7]***	22,2 [20,8; 24,1]***	22,2 [21,4; 23,4]***	23,8 [22,6; 25,4]***	23,9 [22,5; 25,8]***	23,1 [21,2; 24,0]***			

* статистически значимые различия с контрольной группой при $p < 0,01$;

** статистически значимые различия с контрольной группой при $p < 0,007$;

*** статистически значимые различия с контрольной группой при $p < 0,001$.

Увеличение продолжительности инкубации до 60 минут крови, находящейся в силиконовых трубках, способствовало более выраженной активации тромбоцитов, системы комплемента и росту показателей коагуляции во всех образцах крови по сравнению с аналогичными показателями при инкубации крови в течение 30 минут. Так, по сравнению с контролем, статистически значимо снизилось количество тромбоцитов на 20,3–22,2 % ($p < 0,001$), увеличилось содержание бета-тромбоглобулина на 32,9–37,2 % ($p < 0,001$) и тромбосана В2 на 48,8–59,6 % ($p < 0,001$), повысилось содержание белков расщепления компонентов комплемента С3а (рисунок 1) и С5а на 24,1–28,4 % ($p < 0,001$) и 11,2–13,8 % ($p < 0,001$) соответственно, возросло содержание в плазме крови фрагмента протромбина F1+2 на 18,2–26,2 % ($p < 0,001$) и тромбин-антитромбинового комплекса III на 25,3–31,6 % ($p < 0,001$).

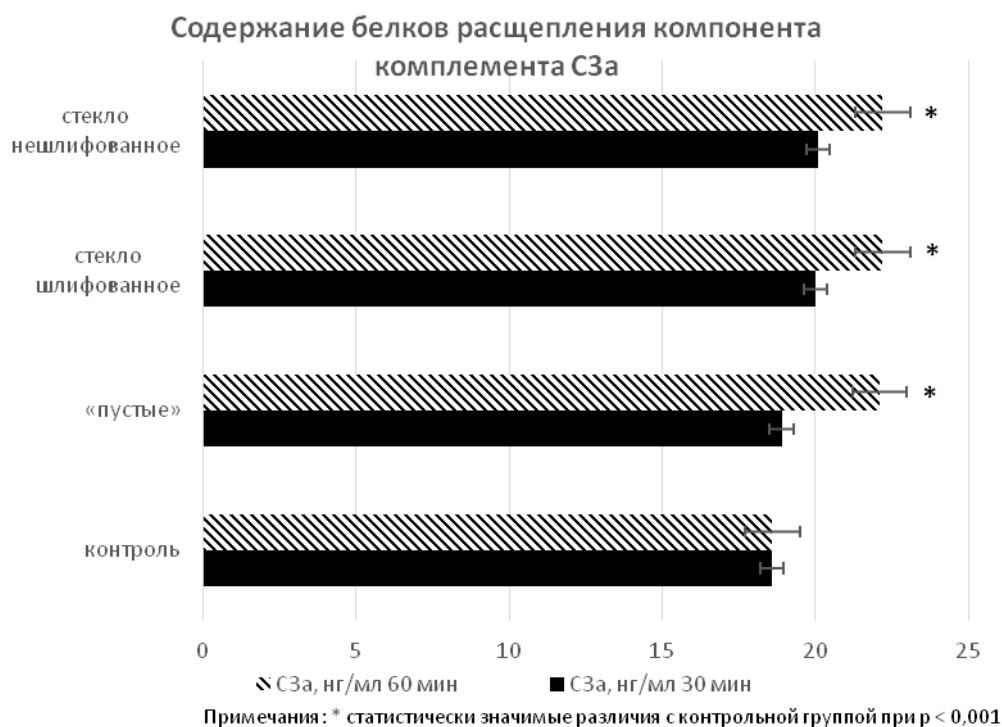


Рисунок 1 – Содержание белков расщепления компонента комплемента С3а при инкубации крови в течение 30 и 60 минут в ПВХ трубках

Следует отметить, что при инкубации крови в ПВХ трубках в течение 60 минут и при инкубации крови в течение 30 минут в силиконовых трубках, статистически значимых изменений фрагмента протромбина F1+2 и тромбин-антитромбинового комплекса III по сравнению с контролем не выявлено (таблицы 1, 2).

Таким образом, на основании результатов, полученных в серии экспериментов определения гемосовместимости при инкубации донорской крови в условиях эксперимента, установлено, что:

ни в одной из 6 экспериментальных групп при инкубации донорской крови в ПВХ трубках и силиконовых трубках в течение 30 и 60 минут не выявлено статистически значимых изменений по сравнению с контролем содержания D-димера, уровня свободного гемоглобина, среднего объема тромбоцитов, содержания лейкоцитов, эритроцитов и гемоглобина;

в процессе проведения эксперимента по определению гемосовместимости при инкубации донорской крови в ПВХ трубках и силиконовых трубках в течение 30 и 60 минут не определены отрицательные и положительные контрольные образцы;

увеличение времени инкубации донорской крови до 60 минут приводило к более выраженным изменениям морфофункциональных показателей крови, содержащейся как в ПВХ трубках, так и силиконовых трубках по сравнению со сдвигами подобных показателей при 30-минутной инкубации;

на фоне инкубации крови в течение 60 минут в силиконовых трубках выявлялось статистически значимое увеличение содержания фрагмента протромбина F1+2 и тромбин-антитромбинового

комплекса III, сдвиги которых не определялись при инкубации крови в течение 30 минут в силиконовых трубках и в ПВХ трубках при инкубации крови в течение 60 минут;

увеличение продолжительности инкубации консервированной донорской крови в *in vitro* тест-модели не является целесообразным, в связи с высокой стабильностью крови, которую создает консервирующий раствор.

Заключение. Для изучения гемосовместимости изделий медицинского назначения в *in vitro* тест-модели искусственного кровотока использование цельной консервированной донорской крови не является целесообразным в связи с высокой стабильностью крови, которую создает гемоконсервант.

Предпочтительным является использование в *in vitro* тест-модели искусственного кровотока цельной гепаринизированной крови сразу после забора ее у доноров.

Трубки из поливинилхлорида являются более гемосовместимыми по сравнению с силиконовыми трубками и могут быть рекомендованы для моделирования искусственного кровотока в *in vitro* тест-модели.

Приоритетными, экспериментально установленными критериями оценки гемосовместимости медицинских изделий являются: количество тромбоцитов, фрагмент протромбина F1+2, тромбин-анти тромбиновый комплекс III, бета-тромбоглобулин, тромбоксан B2, белки расщепления компонентов комплемента C3a и C5a.

Сведения о НИР. НИР «Разработать метод оценки гемосовместимости *in vitro* изделий медицинского назначения на основе тест-модели искусственного кровотока» подпрограммы «Безопасность среды обитания человека» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», 2021–2025 гг., регистрационный номер 20220371.

Литература

1. Sarode, D. N. In Vitro models for thrombogenicity testing of blood-recirculating medical devices / D. N. Sarode, S. Roy // Expert Review of Medical Devices. – 2019. – Vol. 16, № 7. – P.603–616.

2. Hemocompatibility testing of blood-contacting implants in a flow loop model mimicking human blood flow / A. Link, G. Cattaneo, E. Brynda [et al.] // Journal of Visualized Experiments. – 2020. – Vol. 157. – DOI: 10.3791/60610.

3. Product evaluation: blood compatibility studies / A. Bhatt, R. Nair, R. Ramakrishnan [et al.] // Biomedical product and materials evaluation / ed. P. V. Mohanan. – Sawston, 2022. – P. 435–459.

4. Blok, L. J. S. In vitro hemocompatibility testing: the importance of fresh blood / L. J. S. Blok, G. E. Engels, W. van Oeveren // Biointerphases. – 2016. – Vol. 11, № 2. – DOI: 10.1116/1.4941850.

5. Dabigatran is less effective than warfarin at attenuating mechanical heart valve-induced thrombin generation / I. H. Jaffer, A. R. Stafford, J. C. Fredenburgh [et al.] // Journal of the American Heart Association. – 2015. – Vol. 4, № 8. – DOI: 10.1161/JAHA.115.002322.

6. Оценка биологической безопасности медицинских изделий (аналитический обзор) / В. И. Севастьянов, Н. В. Перова, Е. В. Арзуманянц [и др.] // Перспективные материалы. – 2024. – № 4. – С. 17–30.

7. Особенности токсического действия гексилового эфира 5-аминолевулиновой кислоты в условиях одно- и многократного внутривенного введения / Е. К. Власенко, С. И. Сычик, В. А. Стельмах, В. А. Грынчак // Токсикологический вестник. – 2015. – № 5. – С. 31–36.

8. Изучение эмбриотоксического и тератогенного действия диизононилфталата / В. А. Грынчак, С. И. Сычик, Е. К. Власенко [и др.] // Токсикологический вестник. – 2017. – № 5. – С. 22–27.

9. Грынчак, В. А. Особенности токсического действия диизононилфталата и его регламентирование в полимерных материалах и изделиях медицинского назначения / В. А. Грынчак, С. И. Сычик // Анализ риска здоровью. – 2020. – № 1. – С. 118–125.

10. Gerwin, E. E. In vitro blood flow model with physiological wall shear stress for hemocompatibility testing – An example of coronary stent testing / E. E. Gerwin, L. J. B. Sjoerd, O. van Willem // Biointerphases. – 2016. – Vol. 11, № 3. – DOI: 10.1116/1.4958979.

11. ISO 10993-4:2017. Biological evaluation of medical devices. – Pt. 4 : Selection of tests for interactions with blood. – Publ. 18.10.2017. – Geneva : [s. n.], 2017. – 69 p.

**USE OF PRESERVED WHOLE BLOOD TO ASSESS
THE HEMOCOMPATIBILITY OF MEDICAL DEVICES IN VITRO**

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

This study presents the results of experiments of the use of whole preserved human donor blood in *in vitro* test model of artificial blood flow used to study hemocompatibility of medical devices. It has been established that the use of whole preserved donor blood in *in vitro* test model for studying hemocompatibility of medical devices is not reasonable due to the high stability of blood caused by the content of hemoconservative in it. It is preferable to use whole heparinized blood immediately after its collection from donors. The use of polyvinylchloride tubing in *in vitro* test model of artificial blood flow as more hemocompatible than silicone tubing has been experimentally justified.

The limiting indicators for the evaluation of hemocompatibility of medical devices in this study were: platelet count, prothrombin fragment F1+2, thrombin-antithrombin complex III, beta-thromboglobulin, thromboxane B2, proteins of cleavage of complement components C3a and C5a.

Keywords: whole conserved blood, *in vitro* test model, platelets, coagulation, complement system, hemocompatibility, medical devices.

References

1. Sarode D. N., Roy S. In Vitro models for thrombogenicity testing of blood-recirculating medical devices. *Expert Rev Med Devices*. 2019; 16(7): 603–16.
2. Link A., Cattaneo G., Brynda E. et al. Hemocompatibility testing of blood-contacting implants in a flow loop model mimicking human blood flow. *J Vis Exp*. 2020; 157. DOI: 10.3791/60610.
3. Bhatt A., Nair R., Ramakrishnan R. et al. Product evaluation: blood compatibility studies In: Mohanan P. V. ed. *Biomedical product and materials evaluation*. Sawston; 2022: 435–59.
4. Blok L. J. S., Engels G. E., van Oeveren W. In vitro hemocompatibility testing: the importance of fresh blood. *Biointerphases*. 2016; 11(2). DOI: 10.1116/1.4941850.
5. Jaffer I. H., Stafford A. R., Fredenburgh J. C. et al. Dabigatran is less effective than warfarin at attenuating mechanical heart valve-induced thrombin generation. *J Am Heart Assoc*. 2015; 4(8). DOI: 10.1161/JAHA.115.002322.
6. Sevastyanov V. I. Assessment of biological safety of medical devices (analytical review). *J Perspektiv Materialy*. 2024; 4: 17–30. (In Russian)
7. Vlasenko E. K., Sychik S. I., Stelmakh V. A., Hrynchak V. A. Features of the toxic effect of hexyl ester of 5-aminolevulinic acid under conditions of single and multiple intragastric administration. *Toxicol Rev*. 2015; 5: 31–6. (In Russian)
8. Grynchak V. A., Sychik S. I., Vlasenko E. K. et al. Study of embryotoxic and teratogenic effect of diisononyl phthalate. *Toxicol Rev*. 2017; 5: 22–7. (In Russian)
9. Grynchak V. A., Sychik S. I. Features of the toxic effect of diisononyl phthalate and its regulation in polymeric materials and medical devices. *Health risk analysis in hygiene*. 2020; 1: 118–25. (In Russian)
10. Gerwin E. E., Sjoerd L. J. B., van Willem O. In vitro blood flow model with physiological wall shear stress for hemocompatibility testing – an example of coronary stent testing. *Biointerphases*. 2016; 11(3). DOI: 10.1116/1.4958979.
11. ISO 10993-4:2017. Biological evaluation of medical devices. Pt 4: Selection of tests for interactions with blood. Geneva: [s. n.]; 2017.

e-mail для переписки: lida_lappo@bk.ru

Поступила 07.10.2024

Юркевич Е. С., Петрова С. Ю., Крымская Т. П.

ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КОМПЛЕКСНОГО РИСКА ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПЕСТИЦИДНЫХ ФОРМУЛЯЦИЙ НА ОСНОВЕ БИФЕНТРИНА И ХЛОРАНТРАНИЛИПРОЛА ДЛЯ РАБОТНИКОВ АГРОПРОМЫШЛЕННОГО КОМПЛЕКСА

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. В данном исследовании приведены результаты оценки риска для работающих при применении в натуральных условиях формуляции инсектицида, содержащего 159 г/л бифентрина + 106 г/л хлорантранилипрола, при штанговом опрыскивании рапса ярового с нормой расхода 0,4 л/га и расходом рабочей жидкости 200 л/га. Методом газожидкостной и высокоэффективной жидкостной хроматографии проводили определение содержания действующих веществ в воздухе рабочей зоны, атмосферном воздухе, смывах с открытых и закрытых средствами индивидуальной защиты участков тела операторов после выполнения производственных операций и сносах на почву с наветренной и подветренной стороны. Рассчитанные величины профессионального риска при различных путях воздействия бифентрина и хлорантранилипрола для заправщика и тракториста не превышают 1 (допустимый риск ≤ 1). Комплексный риск вредного воздействия при поступлении действующих веществ, рассчитанный путем простой суммации величин ингаляционного и дермального риска, не превышает 1 и является допустимым значением, при этом ведущая роль в формировании комплексного риска принадлежит дермальному воздействию (87,5 %). Рекомендованы сроки выхода на обработанные участки, меры безопасности при применении.

Ключевые слова: инсектицид, действующее вещество, гигиенические нормативы, оценка риска, рекомендации по безопасному применению.

Введение. Нерегламентированное использование пестицидов может иметь негативные последствия и привести к появлению устойчивых к ним видов организмов, особенно среди насекомых; вызвать гибель естественных врагов вредителей и других полезных организмов; загрязнять окружающую среду, угрожая человеку и животному миру. Основным источником поступления пестицидов в воздушную среду – обработка сельскохозяйственных культур, семян, лесных угодий, водоемов. Перенос по воздуху способствует широкому распространению в окружающей среде стойких веществ, которые могут обнаруживаться на значительном расстоянии от мест их применения [1, 2].

Пестицидная нагрузка представляет потенциальную опасность не только для объектов среды обитания, но и для лиц, которые непосредственно работают со средствами химической защиты растений, при этом максимально опасным является бесконтрольное применение средств защиты растений. Агропромышленный комплекс и личные подсобные хозяйства при современных темпах химизации растениеводства нуждаются в более эффективных и менее токсичных формуляциях. Весьма эффективными в борьбе с вредными насекомыми зарекомендовали себя смеси с системным инсектицидным действием, которые обеспечивают снижение расходов пестицидов в сотни раз [3, 4]. Такими свойствами обладают представители класса синтетических пиретроидов (бифентрин) и антранилдиамидов (хлорантранилипрол).

Для предупреждения неблагоприятных последствий при обращении новых видов средств защиты растений и научного обоснования мер по безопасному применению необходимо проводить оценку риска для лиц, контактирующих с препаратом, при использовании пестицидов в натуральных условиях [5, 6].

Цель работы – оценка комплексного риска негативного воздействия на работающих пестицидной формуляции на основе бифентрина и хлорантранилипрола при использовании на сельскохозяйственных культурах с разработкой мероприятий по безопасному применению в агропромышленном комплексе.

Материалы и методы. Натурные исследования инсектицида (159 г/л бифентрина + 106 г/л хлорантранилипрола) проводили при штанговом опрыскивании (опрыскиватель «Зубр-600-12» с длиной штанги 12 м, агрегатированный с трактором «Беларус») рапса ярового с нормой расхода 0,4 л/га и расходом рабочей жидкости 200 л/га, время работы – 60 минут, продолжительность рабочей смены – 6 часов, дневная норма площади обработки – 50 га.

Подготовку рабочей концентрации препарата и заправку проводил оператор, одетый согласно рекомендациям, имеющимся в паспортах безопасности производителя, в защитный хлопчатобумажный костюм, косынку, резиновые сапоги и перчатки.

Метеорологические условия в период обработки соблюдены и соответствовали требованиям технической нормативной документации [5, 6].

Условия труда оценивали на основании результатов определения методами газожидкостной и высокоэффективной жидкостной хроматографии содержания бифентрина и хлорантранилипрола в воздухе рабочей зоны, атмосферном воздухе, смывах с открытых и закрытых средствами индивидуальной защиты участков тела операторов после выполнения производственных операций и сносах на почву с наветренной и подветренной стороны [6].

Остаточные количества действующих веществ на коже работающих определяли способом смыва со стандартных участков поверхности кожи (открытых частей тела работающих / закрытых средствами индивидуальной защиты (далее – СИЗ) (лоб, лицо, шея, кисти рук, включая межпальцевые промежутки), а также участков тела под спецодеждой (спина, грудь, левое и правое предплечье, левая и правая кисть руки, левая и правая голень) после завершения производственных операций при помощи обезжиренных ватных тампонов, смоченных этиловым спиртом; площадь смыва составляла 100 см². Для контроля использовали фоновые смывы с тех же участков кожи, взятые до начала применения препарата.

На каждом этапе технологического процесса отобраны по 3 пробы в одной точке. При получении значения содержания действующего вещества ниже предела количественного определения использовали 1/2 предела обнаружения используемого метода (таблица 1) [7].

Фактическое значение кожной экспозиции ($D_{ф}$, мг/см²) рассчитывали с учетом выполняемых работ в течение рабочей смены по формуле (1):

$$D_{ф} = D_{ср.} \times F / F_1, \quad (1)$$

где $D_{ср.}$ – среднее содержание вещества на коже (дермальная экспозиция), установленное за время конкретного исследования, мг/см²;

F – дневная норма площади обработки (га) или продолжительности рабочей смены (часы), для оператора-заправщика продолжительность рабочей смены с учетом количества заправок за смену;

F_1 – площадь обработки (га) или время выполнения работы (часы) при проведении испытаний.

В качестве гигиенического норматива допустимого уровня содержания пестицида на коже использовали расчетную величину ориентировочного допустимого уровня загрязнения кожных покровов (далее – ОДУ_{зкп}, мг/см²), которую рассчитывали с применением величины Lim_{ch}^c (мг/кг), экспериментальной или рассчитанной на основе показателя острой дермальной токсичности – ЛД₅₀ (мг/кг), по следующей формуле (2):

$$ОДУ_{зкп} = \frac{Lim_{ch}^c \times M \times K_{ост.} \times K_{отн. \text{ прон.}}}{S \times K_3}, \quad (2)$$

где Lim_{ch}^c – пороговая доза, установленная экспериментально в хроническом опыте или рассчитанная на основании средней летальной концентрации, мг/кг;

M – масса тела человека, в среднем принята за 70 кг;

$K_{ост.}$ – коэффициент остаточный, выражающий экспозиционное соотношение количества вещества, оставшегося на коже после определенного времени, и первоначально нанесенного, в среднем равен 0,25;

$K_{отн. \text{ прон.}}$ – коэффициент относительной проницаемости кожи человека и крысы или кролика для данного вещества (экспериментально установленный), ориентировочно равен 2;

S – площадь кожного покрова человека, в среднем равна 16 120 см²;

K_3 – коэффициент запаса определяется классом опасности при острой дермальной экспозиции в соответствии с гигиенической классификацией пестицидов (коэффициент запаса для веществ 1-2 класса опасности по острой кожной токсичности согласно гигиенической классификации пестицидов равен от 20 до 10, для веществ 3-4 класса – от 10 до 3, для веществ, обладающих выраженными отдаленными и/или специфическими эффектами, включая сенсibilизацию, коэффициент запаса может

приниматься на уровне 20 и более, для веществ, обладающих канцерогенным действием, коэффициент запаса равен 50).

Таблица 1 – Пределы количественного определения содержания действующих веществ бифентрин и хлорантранилипрол

Объект определения	Предел количественного определения / гигиенический норматив	
	бифентрин	хлорантранилипрол
Атмосферный воздух, мг/м ³ / ОБУВ*	0,0005 / 0,0015	0,00025 / 0,007
Воздух рабочей зоны, мг/м ³ / ОБУВ*	0,005 / 0,015	0,0025 / 1,5
Почва, мг/кг / ОДК**	0,0065 / 0,1	0,0025 / 0,2
Смывы, мг/см ² / ОДУ _{зкп}	0,1 × 10 ⁻⁵ / 0,000434	0,25 × 10 ⁻⁵ / 0,000434
ДСД, мг/кг массы тела человека	0,005	2,0

* ОБУВ – ориентировочно безопасный уровень воздействия действующего вещества пестицида (в атмосферном воздухе, воздухе рабочей зоны), мг/м³;
 ** ОДК – ориентировочно допустимая концентрация действующего вещества пестицида в почве, мг/кг.

Риск дермального воздействия определяли на основании величины коэффициента безопасности при дермальном поступлении (далее – КБ_{д.}), который рассчитывали по формуле (3):

$$КБ_{д.} = D_{ф.} / ПДУ / ОДУ_{зкп'} \quad (3)$$

где $D_{ф.}$ – фактическая кожная экспозиция, мг/см²;

ПДУ – предельно допустимый уровень загрязнения кожных покровов, мг/см².

Риск ингаляционного воздействия определяли на основании величины коэффициента безопасности при ингаляционном поступлении (КБ_{инг.}), который рассчитывается по формуле (4):

$$КБ_{инг.} = I_{ср.} / ПДК_{врз} / ОБУВ_{врз'} \quad (4)$$

где $I_{ср.}$ – среднее значение содержания действующего вещества в воздухе из числа проб, отобранных при выполнении одной операции (не менее 3), мг/м³;

ПДК_{врз} – предельно допустимая концентрация действующего вещества пестицида в воздухе рабочей зоны, мг/м³;

ОБУВ_{врз} – ориентировочно безопасный уровень воздействия действующего вещества пестицида в воздухе рабочей зоны, мг/м³.

Гигиеническую оценку риска неблагоприятного воздействия здоровью работающих при применении инсектицида (159 г/л бифентрина + 106 г/л хлорантранилипрола) рассчитывали определением суммирования соотношений фактической ингаляционной и дермальной экспозиции, полученной экспериментально, и гигиенических нормативов, используемых в качестве допустимого уровня ингаляционного и дермального воздействия по следующей формуле (5):

$$КБ_{сумм.} = (I_{ср.} / ПДК / ОБУВ_{врз'}) + (D_{ф.} / ПДУ / ОДУ_{зкп'}), \quad (5)$$

Допустимым считается риск комплексного поступления пестицидов при значении $КБ_{сумм.} < 1$ [6].

Результаты и их обсуждение. При проведении оценки риска для работающих при применении в натуральных условиях формуляции инсектицида (159 г/л бифентрина + 106 г/л хлорантранилипрола) в ходе обработки посевов рапса ярового с нормой расхода 0,4 л/га установлено, что у работающих не возникало видимого ухудшения самочувствия и проявлений повреждения открытых участков кожи и слизистых оболочек глаз; жалобы на ухудшение самочувствия после работы отсутствовали [6, 8].

Содержание бифентрина и хлорантранилипрола, действующих веществ инсектицидного препарата, в воздухе рабочей зоны и в атмосферном воздухе представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Содержание бифентрина и хлорантранилипрола, действующих веществ инсектицидной формуляции, в воздухе рабочей зоны и в атмосферном воздухе при применении на посевах рапса ярового с нормой расхода 0,4 л/ га

Объект исследования	Место отбора	Содержание действующих веществ (среднее значение), мг/м ³	
		Бифентрин	Хлорантранилипрол
Воздух рабочей зоны	Зона дыхания оператора-заправщика	не обнаружено*	0,0030
Воздух рабочей зоны	Зона дыхания тракториста	не обнаружено*	0,0056
Воздух атмосферы	У кромки поля спустя 60 мин после обработки	не обнаружено*	не обнаружено*
* не обнаружено в пределах обнаружения метода.			

Нижний предел обнаружения в воздухе рабочей зоны (при отборе 20 дм³) для бифентрина – 0,005 мг/м³, хлорантранилипрола для воздуха – 0,0025 мг/м³. Полученные данные свидетельствуют, что в результате проведенных исследований д. в. бифентрин в воздухе зоны дыхания оператора-заправщика и тракториста не обнаружен, среднее значение содержания бифентрина для оператора-заправщика и для оператора опрыскивателя составило 0,0025 мг/м³, что не превышает ОБУВ бифентрина в воздухе рабочей зоны – 0,4 мг/м³. Хлорантранилипрол в воздухе зоны дыхания оператора-заправщика и тракториста обнаружен в количестве 0,0030 и 0,0056 мг/м³ соответственно, среднее значение содержания хлорантранилипрола для оператора-заправщика составило 0,0030 мг/м³, для оператора опрыскивателя – 0,0056 мг/м³, что не превышает ОБУВ хлорантранилипрола в воздухе рабочей зоны – 1,5 мг/м³.

В сносах на почву после обработки поля с наветренной стороны бифентрин и хлорантранилипрол не обнаружены, а результаты измерений сносов на почву после обработки поля с подветренной стороны представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Содержание бифентрина и хлорантранилипрола, действующих веществ инсектицидной формуляции, в сносах на почву после обработки поля с подветренной стороны при применении на посевах рапса ярового с нормой расхода 0,4 л/ га

Объект исследования	Место отбора	Содержание действующих веществ (среднее значение) в сносах на почву, мг/м ²	
		Бифентрин	Хлорантранилипрол
Сносы на почву	С подветренной стороны на расстоянии от края опрыскивателя		
	1 м	0,0252	0,0085
	3 м	не обнаружено*	0,0158
	6 м	0,0143	0,0102
* не обнаружено в пределах обнаружения метода.			

Нижний предел обнаружения для сносов составил: для хлорантранилипрола – 0,0025 мг/м², для бифентрина – 0,0065 мг/м².

В сносах на почву д. в. бифентрин определялся на расстоянии от края опрыскивателя на расстоянии 1 и 6 м с подветренной стороны в количестве 0,0252 и 0,0143 мг/м² соответственно, на расстоянии 3 м с подветренной стороны и на расстоянии 1, 3 и 6 м с наветренной стороны не обнаружен и принято его значение с учетом ½ предела обнаружения для проб – 0,00325 мг/м². Среднее значение бифентрина в сносах на почву составило – 0,00875 мг/м². Хлорантранилипрол в сносах на почву наветренной стороны на расстоянии от края опрыскивателя не обнаружен на расстоянии 1, 3 и 6 м, для которых принято его значение с учетом ½ предела обнаружения для проб – 0,00125 мг/м², а в сносах подветренной стороны на расстоянии от края опрыскивателя обнаружен в количествах 0,0085, 0,0158 и 0,0102 мг/м² соответственно на расстоянии 1, 3 и 6 м. Среднее значение хлорантранилипрола в сносах на почву составило 0,006375 мг/м², что не превышает ОДК для почв бифентрина (0,1 мг/кг) и хлорантранилипрола (1,5 мг/кг).

Бифентрин и хлорантранилипрола в смывах с открытых и закрытых СИЗ участков тела операторов после выполнения производственных операций при применении на рапсе яровом с нормой расхода 0,4 л/ га не обнаружены.

Нижний предел метода обнаружения для смывов для бифентрина – $0,1 \times 10^{-5}$ мг/см², для хлорантранилипрола – $0,25 \times 10^{-5}$ мг/см². Учитывая, что в результате проведенных исследований не выявлено

загрязнения препаратом закрытых СИЗ и открытых участков тела работающих (оператора-заправщика и оператора опрыскивателя), следовательно, для выбранных участков тела средняя дермальная нагрузка (концентрация) бифентрина и хлорантранилипрола рассчитана с учетом $\frac{1}{2}$ предела обнаружения для проб со значением «не обнаружено» и составила для бифентрина (для оператора-заправщика и для оператора опрыскивателя) – $0,05 \times 10^{-5}$ мг/см², для хлорантранилипрола (для оператора-заправщика и для оператора опрыскивателя) – $0,125 \times 10^{-5}$ мг/см².

Рассчитано значение фактической кожной экспозиции ($D_{ф}$, мг/см²) с учетом продолжительности рабочей смены 6 часов и фактического времени работы 30 минут (формула 2), которая составила для оператора-заправщика $0,0025$ мг/см² (бифентрин и хлорантранилипрол) и тракториста $0,00100$ мг/см² (бифентрин и хлорантранилипрол) (формула 1) [6].

Установлены следующие пороговые дозы и ориентировочно допустимый уровень загрязнения кожных покровов инсектицидом (159 г/л бифентрина + 106 г/л хлорантранилипрола) для оператора-заправщика и тракториста после выполнения производственных операций по обработке рапса ярового с нормой расхода 0,4 л/га, которые необходимы для расчета риска неблагоприятного воздействия при попадании на кожу: пороговая доза $Lim_{ch}^c = 2$ мг/кг, допустимое суточное поступление для человека 0,7 мг/сутки, допустимое эпидермальное поступление действующего вещества в смену для работающего – 1,56 мг/чел., ориентировочно допустимый уровень загрязнения кожных покровов $ОДУ_{зкп} = 0,000434$ мг/см². При вычислении использовали следующие стандартизованные величины и коэффициенты: пороговая доза Lim_{ch}^c рассчитана на основании средней летальной концентрации; К (коэффициент для веществ 3-4 класса опасности) – 0,001; М (усредненная масса тела взрослого человека) – 70 кг; $K_{ост.}$ (коэффициент остаточный, выражающий экспозиционное соотношение количества вещества, попавшего и оставшегося на коже) – 0,25; S (усредненная площадь кожного покрова взрослого человека) – 16 120 см²; $K_{отн. прон.}$ (ориентировочный коэффициент относительной проницаемости кожи человека и крысы или кролика для данного вещества) – 2 (формула 2).

Величины комплексного (суммарного риска) для оператора-заправщика и оператора опрыскивателя при накожном и ингаляционном воздействии инсектицидной формуляции (159 г/л бифентрина + 106 г/л хлорантранилипрола) при выполнении производственных операций по обработке рапса ярового с нормой расхода 0,4 л/га представлены в таблице 4 (формулы 3–5).

Таблица 4 – Величины комплексного риска воздействия действующих веществ бифентрина хлорантранилипрола инсектицидного препарата

Рассчитанные коэффициенты	Действующее вещество инсектицидной формуляции			
	Оператор-заправщик		Оператор опрыскивателя	
	хлорантранилипрола	бифентрин	хлорантранилипрола	бифентрин
Коэффициент безопасности при кожном поступлении пестицида (риск дермального воздействия), $КБ_{д.}$	0,023	0,023	0,058	0,023
Коэффициент безопасности при ингаляционном поступлении (риск ингаляционного воздействия), $КБ_{инг.}$	0,008375	0,008375	0,008375	0,008375
Величина суммарного риска, $КБ_{сумм.}$	0,031375	0,031375	0,066375	0,031375
Нормативное значение величины суммарного риска, $КБ_{сумм.}$	< 1	< 1	< 1	< 1

Следовательно, результаты приведенных исследований применения препарата в натуральных условиях позволяют оценить инсектицид (159 г/л бифентрина + 106 г/л хлорантранилипрола) как препарат с допустимым риском для работающих, при условии соблюдения установленных агротехнических и гигиенических регламентов использования. Сроки выхода на обработанные участки – 3 дня для проведения механизированных работ, 7 дней для проведения ручных работ [9, 10].

Заключение. На основании проведенного анализа изучения комплексного риска для работающих при применении инсектицидных формуляций на основе бифентрина и хлорантранилипрола, рассчитанного путем простой суммы величин ингаляционного и дермального воздействия, величины профессионального риска для заправщика и тракториста не превышают 1, что является допустимым

значением (допустимый риск ≤ 1). Установлено, что ведущая роль в формировании комплексного риска принадлежит дермальному воздействию (87,5 %), при этом доля бифентрина и хлорантранилипрола в общей сумме комплексного воздействия является примерно равной. Следовательно, контроль при применении новой формуляции инсектицидного препарата рекомендуется проводить по обоим действующим веществам – бифентрину и хлорантранилипролу.

Учитывая, что ведущая роль в формировании комплексного риска включает дермальное воздействие, это обуславливает необходимость обязательного использования средств индивидуальной защиты (респираторы, перчатки, спецодежда) для открытых участков кожных покровов и слизистых оболочек при применении инсектицидной формуляции (159 г/л бифентрина + 106 г/л хлорантранилипрола) для защиты сельскохозяйственных культур от вредителей.

Сведения о НИР. НИР «Провести токсиколого-гигиенические исследования средств защиты растений с расчетом риска для работающих пестицидов Лортама, МД; Радиант, КС; Паллас Экстра 317, ВДГ; Маттера, ВДГ и Тривальди, КЭ, разработкой гигиенических нормативов в объектах среды обитания для действующих веществ флорпирауксил-бензила и спинеторама и МДУ в пищевой продукции для флорпирауксил-бензила, спинеторама, галаксифен-метила, метазахлора с целью научного обоснования безопасного применения в Республике Беларусь», регистрационный номер 20230042.

Литература

1. Поведение пестицидов в окружающей среде. Охрана природы от загрязнения пестицидами. – URL: <http://rupest.ru/news-pesticides/povedenie-pestitsidov-v-okruzhauschei-srede.-ohrana-prirodi-ot-zagryazneniya-pestitsidami.html> (дата обращения: 28.03.2022).

2. Мельников, Н. Н. Пестициды: химия, технология и применение / Н. Н. Мельников. – М. : Химия, 1987. – 712 с.

3. Сидоренко, В. Актуальні технологічні рішення для ефективного застосування пестицидів / В. Сидоренко. – URL: <https://www.agronom.com.ua/aktualni-tehnologichni-rishennya-dlya-efektyvnogo-zastosuvannya-pestytsydiv/> (дата обращения: 30.09.2024).

4. Pesticides: problems, improvements, alternatives / ed.: F. den Hond, P. Groenewegen, N. van Straalen. – Oxford : Blackwell, 2003. – 272 p.

5. Методические указания по гигиенической оценке новых пестицидов : утв. М-вом здравоохранения СССР от 13 марта 1987 г. № 4263-87. – Киев, 1988. – 210 с.

6. Метод определения риска здоровью работающих при применении пестицидов : инструкция по применению № 008-0915 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 07.04.2016 / Респ. унитар. предприятие «Научно-практический центр гигиены» ; И. И. Ильюкова, О. П. Клочкова. – Минск, 2015. – 37 с.

7. Об утверждении гигиенических нормативов : постановление Совета Министров Респ. Беларусь от 25 янв. 2021 г. № 37 // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь. – URL: <https://pravo.by/document/?guid=12551&p0=C22100037&p1=1> (дата обращения: 29.09.2024).

8. Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенических требования к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю) : утв. решением Комис. тамож. союза от 28 мая 2010 г. № 29 : в ред. решений Комиссии Тамож. союза от 17 авг. 2010 г. № 341, от 18 нояб. 2010 г. № 456, от 02 марта 2011 г. № 571, от 07 апр. 2011 г. № 622, от 18 окт. 2011 г. № 829, от 09 дек. 2011 г. № 889, решений Коллегии Евраз. эконом. комиссии от 19 апр. 2012 г. № 34, от 16 авг. 2012 г. № 125, от 06 нояб. 2012 г. № 208, от 15 янв. 2013 г. № 6, от 10 нояб. 2015 г. № 149, от 06 авг. 2019 г. № 132. – URL: http://www.eurasiancommission.org/ru/act/texnreg/depstanmer/sanmeri/Pages/P2_299.aspx (дата обращения: 18.09.2024).

9. Требования к применению, условиям перевозки и хранения пестицидов (средства защиты растений), агрохимикатов и минеральных удобрений : санитар. нормы и правила : утв. постановлением М-ва здравоохранения Респ. Беларусь от 27 сент. 2012 г. № 14. – URL: <https://mshp.gov.by/printv/ru/protection-ru/view/sanitarnye-normy-i-pravila-laquotrebovanija-k-primeneniju-uslovijam-perevozki-i-xranenija-pestitsidov-sred-2186/> (дата обращения: 17.09.2024).

10. Государственный реестр средств защиты растений и удобрений, разрешенных к применению на территории Республики Беларусь. – URL: <https://ggiskzr.by/reestr/> (дата обращения: 28.09.2024).

HYGIENIC ASSESSMENT OF COMPLEX RISK IN THE USE OF PESTICIDE FORMULATIONS BASED ON BIFENTHRIN AND CHLORANTRANILIPROLE FOR WORKERS OF AGRO-INDUSTRIAL COMPLEX

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

This study presents the results of risk assessment for workers when using in full-scale conditions formulation of insecticide containing 159 g/l bifenthrin + 106 g/l chlorantraniliprole at boom spraying of spring rape with a rate of 0.4 l/ha and working fluid flow rate of 200 l/ha by the gas-liquid and high-performance liquid chromatography method was determined. The content of active substances in the air of the working zone, ambient air, washes from open and closed by personal protective equipment body parts of operators after the performance of operations and drifts on the soil on the windward and leeward side. The calculated values of occupational risk at different exposure routes to bifenthrin and chlorantraniliprole for the refueler and tractor driver do not exceed 1 (permissible risk ≤ 1), the complex risk of harmful effects at the intake of active substances, calculated by simple summation of the values of inhalation and dermal risk, does not exceed 1 and is a permissible value, while the leading role in the formation of complex risk belongs to dermal exposure (87.5 %). The terms of access to the treated areas, safety measures during application are recommended.

Keywords: insecticide, active substance, hygienic standards, risk assessment, recommendations for safe use.

References

1. Behavior of pesticides in the environment. Protecting nature from pesticide pollution. Available at: <http://rupest.ru/news-pesticides/povedenie-pestitsidov-v-okruzhausehei-srede.-ohrana-prirodi-ot-zagryazneniya-pestitsidami.html> (accessed 28 March 2022). (in Russian)
2. Mel'nikov N. N. Pesticides: Chemistry, technology and application. Moscow: Himiya; 1987. (in Russian)
3. Sidorenko V. Current technological solutions for effective storage of pesticides. Available at: <https://www.agronom.com.ua/aktualni-tehnologichni-rishennya-dlya-efektyvnogo-zastosuvannya-pestytsydiv/> (accessed 30 September 2024). (in Ukrainian)
4. den Hond F., Groenewegen P., van Straalen N., eds. Pesticides: Problems, improvements, alternatives. Oxford: Blackwell; 2003.
5. Guidelines for the hygienic assessment of new pesticides: utv. M-vom zdravoohraneniya SSSR ot 13 marta 1987 g. № 4263-87. Kiev; 1988. (in Russian)
6. Method for determining the health risk of workers when using pesticides: instrukciya po primeneniyu No. 008-0915. Ministry of Health of the Republic of Belarus 07.04.2016. Minsk; 2016. (in Russian)
7. On approval of hygienic standards: postanovlenie No. 37. Council of Ministers of the Republic of Belarus 25.01.2021. In: Pravo.by: nac. pravovoj Internet-portal Resp. Belarus'. Available at: <https://pravo.by/document/?guid=12551&p0=C22100037&p1=1> (accessed 29 September 2024). (in Russian)
8. Unified sanitary-epidemiological and hygienic requirements for products (goods) subject to sanitary-epidemiological supervision (control): utv. Resheniem Komis. tamozh. soyuza ot 28 maya 2010 g. № 29: v red. reshenij Komissii Tamozh. soyuza ot 17 avg. 2010 g. № 341, ot 18 noyab. 2010 g. № 456, ot 02 marta 2011 g. № 571, ot 07 apr. 2011 g. № 622, ot 18 okt. 2011 g. № 829, ot 09 dek. 2011 g. № 889, reshenij Kollegii Evraz. ekonom. komissii ot 19 apr. 2012 g. № 34, ot 16 avg. 2012 g. № 125, ot 06 noyab. 2012 g. № 208, ot 15 yanv. 2013 g. № 6, ot 10 noyab. 2015 g. № 149, ot 06 avg. 2019 g. № 132. Available at: http://www.eurasiancommission.org/ru/act/texnreg/depstanmer/sanmeri/Pages/P2_299.aspx (accessed 18 September 2024). (in Russian)
9. Requirements for the use, conditions of transportation and storage of pesticides (plant protection products), agrochemicals and mineral fertilizers: sanitarnyye normy i pravila: utv. postanovleniem M-va zdravoohraneniya Resp. Belarus' ot 27.09.2012 № 149. Available at: <https://mshp.gov.by/printv/ru/protection-ru/view/sanitarnyye-normy-i-pravila-laquotrebovanija-k-primeneniju-uslovijam-perevozki-i-xranenija-pestitsidov-sred-2186/> (accessed 17 September 2024). (in Russian)
10. State register of plant protection products and fertilizers. Available at: <https://ggiskzr.by/reestr/> (accessed 28 September 2024). (in Russian)

e-mail для переписки: yurkevich.elena@gmail.com

Поступила 11.10.2024

Раздел 7

САНИТАРНАЯ И АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

УДК 633.1:543.064

Егорченкова О. Е., Курпединов К. С., Молчанов М. Д.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ ПРИ ВАЛИДАЦИИ МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ АЗОКСИСТРОБИНА И ЕГО ОСНОВНОГО МЕТАБОЛИТА Z-АЗОКСИСТРОБИНА В ЗЕРНЕ ХЛЕБНЫХ ЗЛАКОВ МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ С МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ

*Федеральное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека,
г. Мытищи, Россия*

Аннотация. Проведена валидация метода определения остаточных количеств азоксистробина и его основного метаболита Z-азоксистробина на 10 образцах зерна хлебных злаков с внесением действующих веществ на уровнях нижнего предела количественного определения (далее – LOQ) и десятикратного предела количественного определения (далее – $10 \times \text{LOQ}$): 0,01 мг/кг и 0,1 мг/кг. Метод основан на газожидкостной хроматографии с использованием масс-спектрометрического детектора (далее – ГЖХ-МС) с электронной ионизацией и детектированием веществ в режиме регистрации выбранных ионов. Нижний предел количественного определения для азоксистробина и его метаболита составил 0,01 мг/кг. Протокол подготовки включал криогенный размол образцов зерна, экстракцию с применением технологии QuEChERS, дополнительную ступень очистки в виде вымораживания экстрактов при температуре не выше минус 18 °С с последующим концентрированием до сухого остатка и растворением в ацетоне. Полнота извлечения составила 79–102 % при относительных стандартных отклонениях 3,2–7,2 %. Валидированный метод использован для контроля содержания азоксистробина и его основного метаболита в образцах зерна озимой пшеницы и ячменя ярового, выращенных в различных регионах Российской Федерации.

Ключевые слова: зерно хлебных злаков, валидация, азоксистробин, z-азоксистробин, QuEChERS, ГЖХ-МС.

Введение. Решение вопросов продовольственной безопасности тесно связано с эффективным производством зерновых культур, которые возделываются на обширных территориях Российской Федерации. Заболевания растений, такие как септориоз и фузариоз, рост популяции вредителей, включая стеблевых хлебных блошек (*Chaetocnema aridua* и *Ch. hortensis*), а также активное распространение сорняков подчеркивают необходимость применения современных агротехнологий и средств защиты растений. Для повышения урожайности широко используются пестициды группы стробилуринов, которые зарекомендовали себя как эффективные фунгициды [1].

Азоксистробин (methyl(E)-2-{2-[6-(2-цианопенокси)пиримидин-4-илокси]фенил}-3-метоксиакрилат) – системный фунгицид широкого спектра действия, принадлежащий к классу метоксиакрилатов, получаемых из природных стробилуринов. Он обладает широким спектром действия и эффективен против патогенов из всех основных таксономических групп грибов: оомицетов, аскомицетов, дейтеромицетов и базидиомицетов, в настоящее время широко используется при защите злаковых культур. Основным механизмом его действия заключается в блокировании митохондриального дыхания грибов, что препятствует переносу электронов в дыхательной цепи, вызывая остановку роста и развития патогена. Этот фунгицид характеризуется высокой мобильностью в растениях, что позволяет ему равномерно распространяться через сосуды ксилемы, обеспечивая системную защиту от инфекций [2].

Азоксистробин быстро метаболизируется в растениях с образованием основного метаболита – Z-азоксистробина, который сохраняет биологическую активность и может положительно влиять на защитные свойства растений [3]. Данный фунгицид отличается высокой эффективностью при низких нормах применения, что минимизирует его воздействие на окружающую среду и способствует

сохранению баланса микробиоты и экологической устойчивости агроценозов. Эти свойства, наряду с длительной защитой зерновых культур на протяжении 4–6 недель, делают азоксистробин одним из наиболее востребованных фунгицидов на мировом рынке сельскохозяйственных препаратов.

Для контроля остаточных количеств азоксистробина и его метаболитов в растительных образцах традиционно используется метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (далее – ВЭЖХ), поскольку он подходит для анализа низколетучих веществ. В данном исследовании применен в качестве эффективной альтернативы метод ГЖХ-МС.

Для реализации данного метода пробоподготовка образцов осуществлялась с применением известной технологии QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe – Быстро, Просто, Дешево, Эффективно, Надежно и Безопасно), которая доказала свою эффективность благодаря скорости, простоте и высокой точности при извлечении широкого перечня пестицидов из растительных матриц [4].

Цель работы – валидация метода определения остаточных количеств азоксистробина и Z-азоксистробина в зерне хлебных злаков методом газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием и его апробация на реальных пробах.

Материалы и методы.

Объекты исследования. Образцы зерна хлебных злаков (озимая пшеница, ячмень яровой), азоксистробин и его метаболит Z-азоксистробин.

Реактивы, материалы. Аналитические стандартные образцы азоксистробина (CA Reg. № 131860-33-8, содержание основного компонента 99,8 %) и Z-азоксистробина, (CA Reg. № 143130-94-3, содержание основного компонента 100 %); ацетон (Fisher Scientific); ацетонитрил (LC-MS grade, Concord Technology); вода деионизированная, полученная с использованием системы очистки воды Merck-Milli-Q Integral 5; коммерческий экстракционный набор VetExQ (Интерлаб) для анализа остаточных количеств пестицидов из образцов фруктов и овощей, содержащих жиры, парафины и зерна, комбикормов при контроле продуктов питания, включающий в себя пробирки полипропиленовые центрифужные на 50 см³ (с крышками), набор солей для экстракции (4 г сернистого магния, 1 г хлорида натрия, 1 г цитрата натрия, 0,5 г лимоннокислого натрия двузамещенного, 1,5-водного), пробирки полипропиленовые центрифужные на 15 см³ (с крышками) с насыпными сорбентами на основе первично-вторичного амина (далее – PSA), сернистого магния и твердофазного сорбента на основе октадецилсилана (кат. № IL-5650) и (кат. № IL-5156); керамические гомогенизаторы фирмы «Agilent Technologies» (кат. № 5982-9313).

Хранение аналитических стандартных образцов проводилось в условиях строгого температурного контроля (2–8 °С) в холодильной камере, что соответствует рекомендованным в сертификатах условиям хранения и исключает значительные температурные колебания.

Оборудование. Хромато-масс-спектрометр «Agilent 5977A» с газовым хроматографом «Agilent 7890B», автоматический пробоотборник для жидких образцов модели «Agilent 7650A», колонка хроматографическая HP-5MS Ultra Inert (30 м × 0,25 мм × 0,25 мкм), № по каталогу 19091S-433 UI, «Agilent Technologies»; весы электронные Precisa серии XT-120A, «Precisa Gravimetrics AG Dietikon»; лабораторные электронные весы VIBRA модели AJH-420CE, «Shinko Denshi CO, Ltd»; центрифуга лабораторная «Eppendorf 5810R», «Eppendorf AG»; куттер (измельчитель) «Blixer 2», «Robot coupe»; микрошприцы SGE-Chromatec вместимостью 10 и 100 мм³, ЗАО СКБ «ХРОМАТЭК»; шейкер для пробирок «Вортекс 3», «IKA GMBH». Для управления оборудованием и обработки результатов применяли программное обеспечение MassHunter GC/MS Data Acquisition, Agilent MassHunter Workstation Qualitative and Quantitative Analysis.

Условия хроматографирования. Температура детектора: квадруполь – 150 °С, источника – 230 °С, переходной камеры – 280 °С; температура испарителя: 275 °С. Температура термостата колонки программированная: начальная – 210 °С, выдержка 2 мин, нагрев колонки со скоростью 10 °С в минуту до температуры 300 °С, выдержка 6 мин. Газ-носитель гелий: поток в колонке 1,0 см³/мин, давление – 16,635 psi, средняя линейная скорость – 38,867 см/сек. Хроматографируемый объем: 1 мм³. Режим масс-спектрометрического детектирования – регистрация выбранных ионов (далее – SIM).

Приготовление градуировочных растворов. Исходные растворы аналитических стандартов азоксистробина и Z-азоксистробина с концентрациями 100 мкг/см³ приготовлены взвешиванием (0,0100 г ± 0,0005 г) каждого вещества (раздельно) в мерных колбах на 100 см³, с последующим доведением объемов до метки ацетоном. Растворы азоксистробина и Z-азоксистробина при совместном присутствии для градуировки и внесения (концентрация 1,0 мкг/см³ и 10 мкг/см³): в мерные колбы вместимостью 100 см³ помещали по 1 см³ и 0,1 см³ (соответственно) исходного раствора каждого вещества (раздельно) с концентрацией 100 мкг/см³, разбавляли ацетоном до метки. Рабочие растворы

азоксистеробина и Z-азоксистеробина при совместном присутствии приготовлены последовательным разбавлением растворов для градуировки и внесения (концентрация 1,0 мкг/см³ и 10 мкг/см³) ацетоном (диапазон концентраций 0,025–0,5 мкг/см³).

Градуировочные растворы на матрице. Для приготовления градуировочного раствора азоксистеробина и Z-азоксистеробина при совместном присутствии на основе матрицы в экстракт контрольного образца зерна озимой пшеницы, подготовленный для хроматографирования, объемом 0,95 см³ вносили раствор азоксистеробина и Z-азоксистеробина при совместном присутствии в ацетоне с концентрацией 1,0 мкг/см³ в виде аликвоты фиксированного объема 0,05 см³, отобранной с помощью микрошприца вместимостью 100 мм³.

Оценка полноты извлечения. Для приготовления образцов зерна озимой пшеницы с внесением азоксистеробина и его метаболита Z-азоксистеробина на уровне LOQ – 0,01 мг/кг и 10 × LOQ – 0,1 мг/кг в навески контрольных образцов массой 5 г вносили раствор азоксистеробина и его метаболита Z-азоксистеробина при совместном присутствии в ацетоне с концентрациями 1,0 мкг/см³ и 10 мкг/см³ в виде аликвот фиксированного объема 0,05 см³, отобранных с помощью микрошприца на 100 мм³. Выполняли по 5 повторностей для каждой концентрации.

Подготовка образцов. Для проведения анализа доставленные в лабораторию замороженные пробы сельскохозяйственной продукции (зерно озимой пшеницы и ячменя ярового) тщательно измельчали с использованием куттера в присутствии сухого льда.

Экстракция. Гомогенизированный образец зерна массой 5 г помещали в центрифужную полипропиленовую пробирку объемом 50 см³, добавляли 10 см³ деионизированной воды, 10 см³ ацетонитрила и керамический гомогенизатор. Затем закрывали крышку и интенсивно встряхивали вручную в течение 30 секунд. Далее в пробирку добавляли смесь солей для экстракции, закрывали крышку и встряхивали на шейкере в течение 1 минуты. Пробу центрифугировали в течение 5 минут при скорости 4500 об/мин, после чего вымораживали в течение 1 часа при температуре не выше минус 18 °С.

Очистка. Аликвоту охлажденного экстракта (верхний слой в пробирке) объемом 6 см³ с помощью пипетки переносили в пропиленовую центрифужную пробирку, содержащую смесь сорбентов. Закрывали крышку и интенсивно встряхивали на шейкере в течение 1 минуты. Центрифугировали 5 минут при скорости вращения 4500 об/мин. Очищенный экстракт вымораживали в течение 1 часа при температуре не выше минус 18 °С. Охлажденную аликвоту верхнего слоя в пробирке объемом 5 см³ переносили пипеткой в колбу для упаривания на 50 см³ и концентрировали отдуванием в токе инертного газа при температуре не выше 35 °С. Сухой остаток растворяли в 1 см³ ацетона и анализировали.

Результаты и их обсуждение. Традиционно контроль азоксистеробина в растительной продукции выполняют методом ВЭЖХ с ультрафиолетовым детектором в сочетании с классической пробоподготовкой [5, 6]. Согласно документу SANTE/11312/2021 [7] была проведена внутрилабораторная валидация метода СТБ EN 15662-2017 [8] для предоставления доказательств того, что метод ГЖХ-МС с пробоподготовкой по технологии QuEChERS подходит для извлечения и количественного определения азоксистеробина и его метаболита в зерне хлебных злаков.

Метод ГЖХ-МС благодаря высокой селективности и чувствительности дает возможность с точностью идентифицировать и количественно определять целевые соединения даже в сложных многокомпонентных матрицах, таких как зерно [9]. Однако анализ низколетучих веществ, таких как азоксистеробин, требует при ГЖХ-МС использования высоких температур и может привести к искажению сигналов или снижению чувствительности метода.

Оптимизация условий хроматографирования при анализе азоксистеробина и его метаболита методом ГЖХ-МС, включающая повышение температуры испарителя до 275 °С и температуры колонки до 300 °С, стала ключевым этапом для достижения высокой чувствительности и получения узкого симметричного пика с удовлетворительным разрешением.

В серии проведенных экспериментов было установлено, что температура 275 °С в испарителе оптимальна для обеспечения баланса между эффективным испарением и сохранением целостности анализируемых аналитов. Проба быстро и более равномерно поступала в колонку при данной температуре, чем снизила риск широкого распределения компонентов по времени элюирования (отсутствие размывания пиков). Выбранная температура способствовала более полному испарению действующих веществ и предотвратила осаждение вещества в испарителе, повысив точность анализа.

Повышение температуры колонки до 300 °С ускорило время выхода азоксистеробина и его метаболита, поскольку при высоких температурах снижается вязкость стационарной фазы, что способствует более быстрому движению соединений через колонку. Это позволило не только сократить общее

время анализа, но и обеспечить тем самым более четкую и симметричную форму пиков (рисунок 1). По оси абсцисс показано время (мин), по оси ординат – единица отклика.

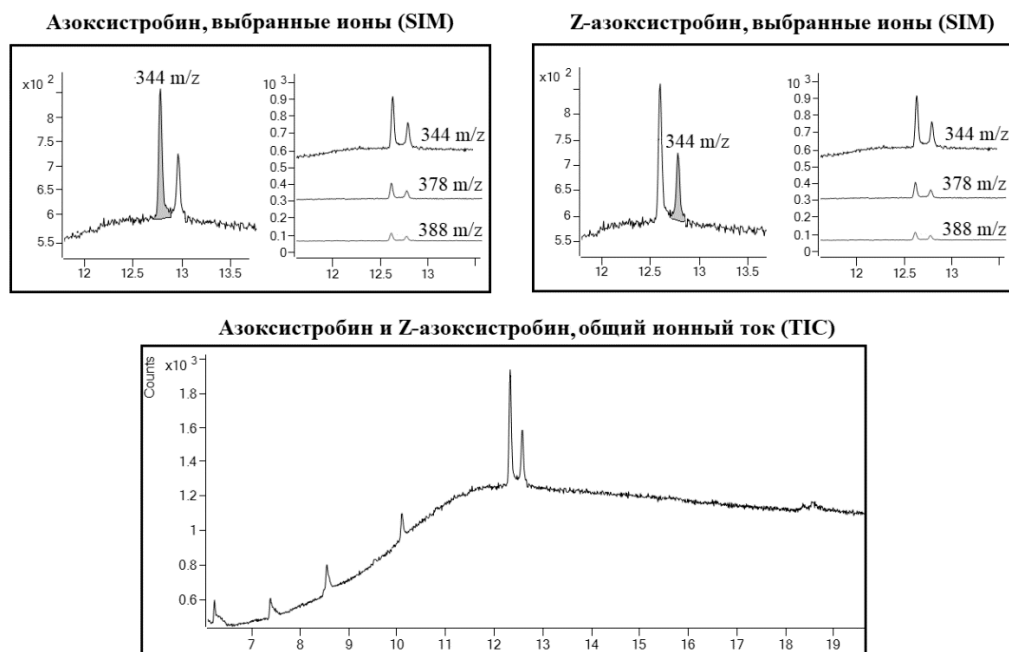


Рисунок 1 – Хроматограмма модельного образца зерна озимой пшеницы с внесением азоксистробина и Z-азоксистробина на уровне 10 × LOQ (0,1 мкг/кг)

Электронная ионизация при 70 эВ в режиме SIM с отношением масса/заряд (m/z): 344 (количественный ион), 372 и 388 дала на масс-спектре азоксистробина фрагментарные ионы, позволившие получить информацию о структуре анализируемого соединения. Схема фрагментации, представленная на рисунке 2, позволяет лучше понять характер разложения молекул азоксистробина и его метаболита при масс-спектрометрическом анализе.

Зерно относится к группе продуктов с высоким содержанием белка и низким содержанием воды. Реализация процедуры пробоподготовки QuEChERS применительно к продуктам данной группы предполагает предварительное внесение в образец воды для достижения ее содержания в матрице более 70 % при соответствующем снижении массы пробы.

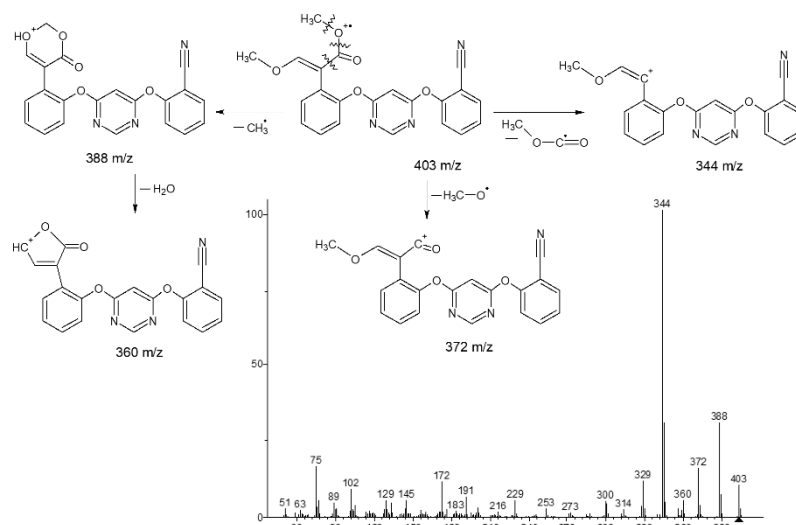


Рисунок 2 – Масс-спектр и предлагаемая схема фрагментации азоксистробина при электронной ионизации

Поэтому масса образцов зерна была уменьшена до 5 г с внесением на стадии экстракции воды, количество которой в 2 раза превышало массу пробы (10 см³).

Криогенный размол проб зерна с сухим льдом позволил избежать деградации азоксистробина и его метаболита и помог достичь приемлемого уровня гомогенности.

Применение ацетонитрила в качестве экстрагента позволило достичь эффективного извлечения азоксистробина и Z-азоксистробина из образцов зерна. Однако данный растворитель может негативно сказаться на ГХ-МС анализе из-за своей высокой полярности, склонности к образованию остатков [10] и возможности загрязнения системы, что приводит к появлению фоновых сигналов в масс-спектре. Для минимизации этих эффектов и предотвращения потерь аналитов при вводе в инжектор хромато-масс-спектрометра применялось концентрирование конечных экстрактов с заменой растворителя на ацетон.

Использование ГХ-МС для анализа азоксистробина и его метаболита сопряжено с трудностями не только из-за низкой летучести исследуемых веществ, а также из-за возможных матричных эффектов [11].

Применение цитратного буфера позволило стабилизировать pH среды, предотвратив разложение азоксистробина, который подвержен гидролизу в кислой среде (pH < 4). Поддержание оптимального pH обеспечило сохранение структуры аналитов и минимизацию коэкстракции мешающих компонентов матрицы.

Использование твердофазной экстракции (далее – ТФЭ) с сорбентами на основе октадецилсилана (C₁₈) и PSA в сочетании с вымораживанием позволило значительно улучшить чистоту экстрактов, эффективно удалив полярные компоненты матрицы, а также большую часть липидов, восков, сахаров и других веществ с низкой растворимостью в ацетонитриле.

Для выявления мешающих анализу примесей, которые могут возникать из-за недостатков в процессе пробоподготовки или примесей в реактивах, был проведен анализ холостого реагентного образца. Этот анализ включал выполнение процедуры пробоподготовки и анализа пробы без матрицы, то есть с использованием только растворителей и вспомогательных материалов. Также был проанализирован один контрольный образец матрицы зерна.

Сравнение ответной реакции стандарта, соответствующего LOQ, приготовленного в растворителе, и соответствующего стандарта на основе экстракта показало, что эффект матрицы не превысил 20 % (азоксистробин – 10,9 %, Z-азоксистробин – 2,9 %), что позволило применить для количественного анализа абсолютную калибровку на растворителе (ацетоне).

Построенные градуировочные характеристики зависимости интенсивности сигнала действующих веществ от концентрации (мкг/см³) в растворе (метод корреляционного анализа, автоматический расчет с применением программы Agilent MassHunter), линейны в диапазоне 0,025–0,50 мкг/см³, коэффициенты корреляции 0,99538 и 0,99774 (азоксистробин и Z-азоксистробин соответственно).

Максимально допустимый уровень азоксистробина в зерне хлебных злаков в Российской Федерации установлен на уровне 0,5 мг/кг [12].

Сочетание модифицированной процедуры QuEChERS с хромато-масс-спектрометрией обеспечило не только низкий уровень количественного определения 0,01 мг/кг (в 50 раз ниже величины существующего норматива), но и позволило добиться высокой степени извлечения азоксистробина (92,46 %) и его метаболита (90,97 %). Полученные при расчете величины среднего квадратичного отклонения повторяемости не превысили 20 % (6,4 % – для азоксистробина и 5,2 % – для Z-азоксистробина).

Валидированная методика была апробирована при оценке контаминации зерновой продукции остаточными количествами пестицидов. Выполнено определение азоксистробина и его метаболита в зерне озимой пшеницы и ячменя ярового, выращенных в различных регионах Российской Федерации с применением препаратов на основе азоксистробина при норме расхода действующего вещества 125 г/га (Московская, Ленинградская, Орловская, Рязанская, Ростовская, Волгоградская области и Краснодарский край).

Во всех исследуемых пробах зерна озимой пшеницы и ярового ячменя остаточные количества азоксистробина и его метаболита Z-азоксистробина не были идентифицированы, то есть их уровень оказался ниже предела количественного определения (0,01 мг/кг).

Заключение. Проведенная валидация метода газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием подтвердила его эффективность при определении остаточных количеств азоксистробина и его метаболита Z-азоксистробина в зерне хлебных злаков. Метод продемонстрировал высокую чувствительность, позволяя обнаружить исследуемые вещества на уровне 0,01 мг/кг.

Метод QuEChERS, примененный для пробоподготовки, показал удовлетворительные результаты при извлечении веществ, обеспечив минимальные потери аналитов и высокое качество экстрактов. Эффективное удаление липидов и восков благодаря вымораживанию экстрактов и использованию сорбентов способствовало повышению точности последующего анализа.

Оптимизация условий хроматографирования (регулировка температур испарителя и колонки) улучшила чувствительность метода, что расширило возможности применения ГЖХ-МС в качестве альтернативного метода для контроля качества и безопасности пищевых продуктов в дополнение к традиционно используемой ВЭЖХ.

Литература

1. The strobilurin fungicides / D. W. Bartlett, J. M. Clough, J. R. Godwin [et al.] // *Pest Management Science*. – 2002. – Vol. 58, № 7. – P. 649–662.

2. Pre-harvest nitrogen and azoxystrobin application enhances raw product quality and post-harvest shelf-life of baby spinach (*Spinacia oleracea* L.) / G. Conversa, A. Bonasia, C. Lazzizzera, A. Elia // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. – 2014. – Vol. 94, № 15. – P. 3263–3272.

3. Leaching of azoxystrobin and its degradation product R234886 from Danish agricultural field sites / L. F. Jorgensen, J. Kjær, P. Olsen, A. E. Rosenbom // *Chemosphere*. – 2012. – Vol. 88, № 5. – P. 554–562.

4. AOAC Official Method 2007.01. Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate. – URL: http://www.weber.hu/Downloads/SPE/QuEChERS/AOAC_2007_01.pdf (date of access: 25.08.2024).

5. Определение остаточных количеств Азоксистробина (IC IA 5504) и его геометрического изомера (R-230310) в воде, почве, плодах огурцов, томатов, ягодах винограда, зерне и соломе зерновых колосовых культур методом высокоэффективной жидкостной хроматографии : МУК 4.1.1213-03 // Определение остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды : сб. метод. указаний / М-во здравоохранения Рос. Федерации, Федер. центр госэпиднадзора Минздрава России ; под ред. Н. Е. Акоповой, Н. В. Кожока, Е. И. Максаковой. – М., 2004. – Вып. 2, ч. 1. – С. 4–25.

6. Определение остаточных количеств азоксистробина и его основного метаболита Z-азоксистробина в зерне и масле кукурузы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии : МУК 4.1.3274-15 / Федер. служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. – М. : Федер. центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2016. – 20 с.

7. Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed : SANTE/11312/2021. – Supersedes Document № SANTE/2019/12682 ; implemented by 01.01.2022. – URL: https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlALL/SANTE_11312_2021.pdf (date of access: 07.10.2024).

8. Продукция пищевая растительного происхождения. Определение остатков пестицидов с применением ГХ-МС и/или ЖХ-МС/МС после экстракции/разделения ацетонитрилом и очистки с применением дисперсионной ТФЭ. Метод QuEChERS : СТБ EN 15662-2017. – Введ. 01.09.2017. – Минск : Госстандарт, 2017. – 93 с.

9. Безопасность сельскохозяйственной продукции: многокомпонентное определение остаточных количеств пестицидов в зерне / В. Н. Ракитский, Н. Е. Федорова, О. Е. Егорченкова [и др.] // *Гигиена и санитария*. – 2020. – Т. 99, № 9. – С. 968–974.

10. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and «dispersive solid-phase extraction» for the determination of pesticide residues in produce / M. Anastassiades, S. J. Lehotay, D. Stajnbaher, F. J. Schenck // *Journal of AOAC International*. – 2003. – Vol. 86, № 2. – P. 412–431.

11. Андоралов, А. М. Матричный эффект при анализе остаточных количеств пестицидов во фруктах и овощах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с квадруполь-времяпролетным масс-спектрометрическим детектированием / А. М. Андоралов, С. В. Кузнецов, М. Б. Афонин // *Научно-технический вестник Брянского государственного университета*. – 2017. – № 1. – С. 9–17.

12. СанПиН 1.2.3685-21. Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания : утв. постановлением Гл. гос. санитар. врача Рос. Федерации от 28 янв. 2021 г. № 2. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/573500115> (дата обращения: 25.08.2024).

ANALYTICAL APPROACHES IN VALIDATION OF THE METHOD FOR DETERMINING RESIDUAL QUANTITIES OF AZOXYSTROBIN AND ITS MAIN METABOLITE Z-AZOXYSTROBIN IN CEREAL GRAIN BY GAS-LIQUID CHROMATOGRAPHY WITH MASS SPECTROMETRIC DETECTION

Federal Budgetary Establishment of Science «Federal Scientific Center of Hygiene named after F. F. Erisman» of the Federal Service for Surveillance on Consumer Protection and Human Wellbeing, Mytishchi, Russia

The validation of the method for determining residual amounts of azoxystrobin and its main metabolite Z-azoxystrobin was conducted on 10 samples of bread grain, with the active substances added at levels corresponding to the lower limit of quantification (hereinafter – LOQ) and ten times the limit of quantification ($10 \times \text{LOQ}$): 0.01 mg/kg and 0.1 mg/kg. The method is based on GC-MS with electron ionization and detection of substances in selected ion monitoring mode. The lower limit of quantification for azoxystrobin and its metabolite was found to be 0.01 mg/kg. Sample preparation included cryogenic grinding of the grain samples, extraction using a two-stage QuEChERS method, an additional purification step involving freezing the extracts at temperatures not exceeding -18°C , followed by concentration to dryness and re-dissolving in acetone. The extraction efficiency was between 79–102 % with relative standard deviations of 3.2–7.2 %. The validated method was used to monitor the contents of azoxystrobin and its main metabolite in samples of winter wheat and spring barley grown in various regions of the Russian Federation.

Keywords: cereal grain, validation, azoxystrobin, z-azoxystrobin, QuEChERS, GC-MS, MSD.

References

1. Bartlett D. W., Clough J. M., Godwin J. R. et al. The strobilurin fungicides. *Pest Manag Sci.* 2002; 58(7): 649–62.
2. Conversa G., Bonasia A., Lazzizzera C., Elia A. Pre-harvest nitrogen and azoxystrobin application enhances raw product quality and post-harvest shelf-life of baby spinach (*Spinacia oleracea* L.). *J Sci Food Agric*, 2014; 94(15): 3263–72.
3. Jorgensen L. F., Kjaer J., Olsen P., Rosenbom A. E. Leaching of azoxystrobin and its degradation product R234886 from Danish agricultural field sites. *Chemosphere.* 2012; 88(5): 554–62.
4. AOAC Official Method 2007.01. *Pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate*. Available at: http://www.weber.hu/Downloads/SPE/QuEChERS/AOAC_2007_01.pdf (accessed 25 August 2024).
5. Determination of residual amounts of Azoxystrobin (IC IA 5504) and its geometric isomer (R-230310) in water, soil, cucumbers, tomatoes, grapes, grain and straw of cereal crops using high-performance liquid chromatography: MUK 4.1.1213-03. In: *Opredelenie ostatochnykh kolichestv pesticidov v pishchevykh produktakh, sel'skohozyajstvennom syr'e i ob'ektakh okruzhayushchej sredy* (Determination of pesticide residues in food products, agricultural raw materials and environmental objects): sb. metod. ukazaniy. Iss. 2, ch. 1. Moscow; 2004. (in Russian)
6. MUK 4.1.3274-15. Determination of residual amounts of azoxystrobin and its main metabolite Z-azoxystrobin in corn grain and oil by high-performance liquid chromatography: MUK 4.1.3274-15. Moscow: Feder. centr gigieny i epidemiologii Rospotrebnadzora; 2016. (in Russian)
7. SANTE/11312/2021. Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. Available at: https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlALL/SANTE_11312_2021.pdf (accessed 07 October 2024).
8. STB EN 15662–2017. Food of plant origin. Determination of pesticide residues using GC-MS and/ or LS-MS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE – QuEChERS method. Minsk: Gosstandart; 2017. (in Russian)
9. Rakitskii V. N., Fedorova N. E., Egorchenkova O. E. et al. Safety of agricultural products: multicomponent determination of pesticide residues in cereals. *Hyg San.* 2020; 99(9): 968–74. (in Russian)
10. Anastasiades M., Lehotay S. J., Stajnbauer D., Schenck F. J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and «dispersive solid-phase extraction» for the determination of pesticide residues in produce. *J AOAC Int.* 2003; 86(2): 412–31.
11. Andoralov A. M., Kuznecov S. V., Afonin M. B. Matrix effect in the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables using high-performance liquid chromatography with quadrupole-time-of-flight mass spectrometric detection. *Sci and Tech J. of Bryansk State Univ.* 2017; 1: 9–17. (in Russian)
12. SanPiN 1.2.3685-21. Hygienic standards and requirements for ensuring the safety and (or) harmlessness of environmental factors to humans. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/573500115> (accessed 25 August 2024). (in Russian)

e-mail для переписки: e-ol@mail.ru

Поступила 07.10.2024

Ларькина М. В., Курпединов К. С., Молчанов М. Д.

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ОПРЕДЕЛЕНИЮ СОДЕРЖАНИЙ ТРИАЗОЛЬНОГО ФУНГИЦИДА В РАСТИТЕЛЬНЫХ МАТРИЦАХ РАЗЛИЧНОГО СОСТАВА

*Федеральное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека,
г. Мытищи, Российская Федерация*

Аннотация. В работе представлено исследование по определению остаточных количеств триазольного фунгицида тебуконазола в цитрусовых (плоды, сок), плодовых косточковых, плодовых семечковых и древесных орехах методом капиллярной газожидкостной хроматографии (далее – ГЖХ).

В условиях увеличения объемов производства и импорта, а также ужесточения требований к гигиеническим нормам для пищевой продукции разработка и внедрение высокоточных аналитических методов играют ключевую роль в системе контроля безопасности продуктов питания, что и обуславливает актуальность данного исследования.

В представленной работе детально описаны этапы пробоподготовки и условия хроматографического анализа. Разработанный метод позволил достичь нижнего предела количественного определения тебуконазола на уровне 0,01 мг/кг во всех матрицах, что соответствует современным нормативам и требованиям отечественных и международных стандартов. Полученные результаты подтверждают высокую чувствительность предложенной методики, при этом точность метода составила 50 %, что соответствует требованиям действующей нормативной документации и делает разработанный метод применимым для обеспечения безопасности пищевой продукции растительного происхождения.

Ключевые слова: тебуконазол, газожидкостная хроматография, цитрусовые, плодовые косточковые, плодовые семечковые, сок, орехи, остаточные количества, безопасность, растительная продукция.

Введение. Согласно прогнозам, выручка сегмента продовольственного рынка «Фрукты и орехи» в России будет постоянно увеличиваться в период с 2024 по 2029 год в общей сложности на 6,6 миллиарда долларов США (+ 27,83 %), таким образом, вопрос обеспечения безопасности растительной продукции, в том числе импортируемой, приобретает особую актуальность. В условиях глобализации и разнообразия источников поставок, включающих как зарубежные, так и отечественные фермерские хозяйства, контроль безопасности пищевых продуктов является одной из приоритетных задач государственной политики и регулирующих органов. Важную роль в обеспечении безопасности играют меры по контролю содержания остаточных количеств химических средств защиты растений, таких как пестициды, которые применяются в сельском хозяйстве для защиты урожая от вредителей и заболеваний [1].

Одним из таких химических средств является тебуконазол, принадлежащий к классу триазолов. Данное соединение представляет собой системный фунгицид, который применяется для борьбы с широким спектром грибковых заболеваний, таких как мучнистая роса, ржавчина и другие патогенные грибы, поражающих сельскохозяйственные культуры. Механизм действия тебуконазола основан на ингибировании синтеза эргостерола, основного компонента клеточных мембран грибов, что приводит к нарушению проницаемости мембран и гибели патогенов [2].

Несмотря на доказанную эффективность тебуконазола для защиты растений [3], его остаточные количества в растительной продукции могут представлять потенциальную угрозу для здоровья человека, включающую риски эндокринных нарушений и токсическое воздействие на печень и почки [4]. В Российской Федерации установлены максимальные допустимые уровни (далее – МДУ) содержания тебуконазола в исследуемых культурах в диапазоне от 0,05 до 2 мг/кг [5]. Эти нормативы применяются как к импортируемым, так и к отечественным продуктам, таким как плоды и соки цитрусовых, косточковые и семечковые плоды, земляные и древесные орехи. Для обеспечения соблюдения этих норм и минимизации рисков для потребителей разработаны высокочувствительные методы аналитического контроля.

Метод капиллярной газожидкостной хроматографии с термоионным детектированием (далее – ГЖХ-ТИД) является одним из надежных способов определения остаточных количеств триазольных соединений в растительных матрицах. Термоионный детектор обладает высокой селективностью

по отношению к азотсодержащим соединениям, таким как тебуконазол, в то время как специфичность достигается тщательной очисткой экстракта. Использование больших навесок образца позволяет достичь достаточной чувствительности метода. Кроме того, ТИД отличается относительно низкой стоимостью эксплуатации по сравнению с масс-спектрометрическими детекторами и пригоден для рутинной лабораторной практики без необходимости сложного технического обслуживания.

Метод капиллярной ГЖХ-ТИД решает ключевые задачи контроля безопасности пищевой продукции, обеспечивая точное определение остаточных количеств пестицидов в различных матрицах, что особенно важно для защиты здоровья потребителей и соблюдения нормативов. Он используется для мониторинга безопасности как импортируемых, так и отечественных продуктов, позволяя своевременно выявлять несоответствия и предотвращать попадание на рынок небезопасной продукции. Высокая чувствительность и специфичность метода позволяют эффективно выявлять превышение МДУ, что обеспечивает возможность принимать меры по устранению установленных нарушений.

Цель работы состояла в разработке и валидации метода определения остаточных количеств тебуконазола в цитрусовых (плоды, сок), косточковых, семечковых плодах и древесных орехах методом капиллярной газожидкостной хроматографии, а также в проведении оценки его применимости для контроля безопасности импортируемой продукции.

Материалы и методы. Объектами исследования являлись: действующее вещество тебуконазол, плоды и сок цитрусовых (апельсины, лимоны, мандарины); плоды косточковых (персики, сливы, вишня, абрикосы); плоды семечковых (яблоки, груши) и древесные орехи, такие как грецкий орех и фундук. Исследуемые продукты были приобретены на потребительском рынке. Выбор данных матриц обусловлен их высокой потребительской значимостью и частотой использования в пищевой промышленности.

Для анализа использовался газовый хроматограф отечественного производства, оснащенный термоионным детектором, оснащенный капиллярной кварцевой колонкой длиной 30 м и внутренним диаметром 0,25 мм с неподвижной фазой 5% фенилполисилоксан и 95% диметилполисилоксан (толщина пленки 0,25 мкм).

В качестве основных реактивов использовались: тебуконазол (аналитический стандарт) с содержанием основного компонента 99,1 % для приготовления градуировочных растворов; ацетон (особо чистый) в качестве растворителя для приготовления градуировочных растворов и для экстракции тебуконазола из проб растительной продукции; н-гексан и этилацетат (химически чистые), применяемые для экстракции и очистки экстрактов; деионизованная и бидистиллированная вода для приготовления смесей растворителей; кальций хлористый (хлорид кальция) и натрий хлористый (поваренная соль), используемые в процессах экстракции и очистки проб; флорисил для колоночной хроматографии, применяемый для очистки экстрактов на колонке. Эти реактивы обеспечили необходимую чистоту проб и высокую точность измерений, соответствующую требованиям, предъявляемым к методикам контроля остаточных количеств пестицидов в пищевой продукции.

Процесс пробоподготовки включал измельчение образцов до однородного состояния с использованием гомогенизатора, после чего проводилась экстракция тебуконазола.

Из образцов цитрусовых (плоды, сок), плодовых косточковых, плодовых семечковых вещество извлекали с использованием смеси ацетон – вода (соотношение 2 : 1, по объему). В коническую колбу вместимостью 250 мл помещали 25 г измельченного образца и добавляли 70 мл растворителя, после чего смесь интенсивно встряхивали вручную в течение 3 минут и помещали на аппарат для встряхивания на 30 минут. Полученный экстракт фильтровали через воронку Бюхнера под вакуумом, создаваемым водоструйным насосом. Процесс экстракции повторяли дважды, каждый раз добавляя по 20 мл смеси ацетон – вода для полного извлечения тебуконазола. Схема процедуры пробоподготовки образцов плодов и сока цитрусовых, плодов косточковых, плодов семечковых проиллюстрирована на рисунке 1.

Далее объединенный экстракт упаривали под вакуумом до водного остатка (при 40 °С), к которому добавляли 10 мл насыщенного раствора натрия хлористого и 20 мл дистиллированной воды. Водный остаток, насыщенный хлоридом натрия, помещали в делительную воронку (250 мл) и экстрагировали действующее вещество 50 мл смеси циклогексан – этилацетат (соотношение 1 : 1 по объему). После 2–3-минутного встряхивания верхний органический слой отделяли и фильтровали через безводный сульфат натрия в колбу (250 мл). Водную фазу дважды экстрагировали новыми порциями смеси (50 и 20 мл). Объединенный органический экстракт фильтровали через безводный сульфат натрия и упаривали досуха на ротационном испарителе при температуре бани не выше 35 °С.

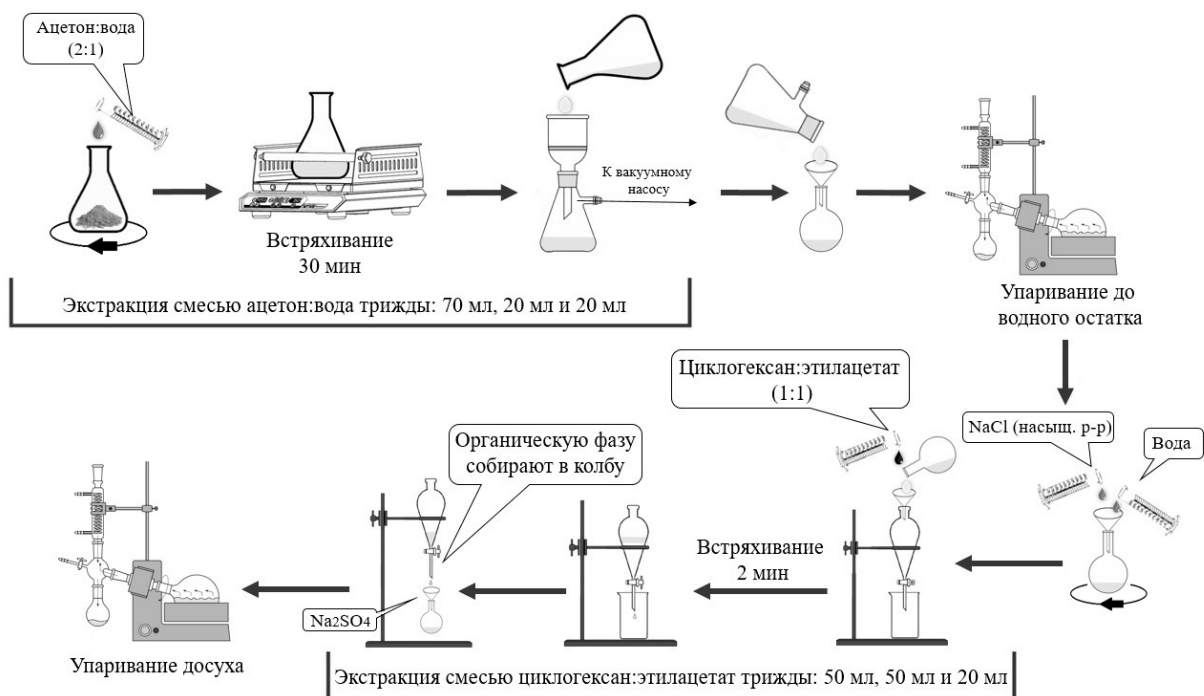


Рисунок 1 – Схема процедуры экстракции тетрациклина из образцов цитрусовых (плоды, сок), плодовых косточковых, плодовых семечковых

Из образцов орехов аналит извлекали ацетонитрилом. В коническую колбу вместимостью 250 мл помещали 25 г измельченного образца, добавляли 70 мл ацетонитрила, встряхивали вручную 3 минуты и на аппарате для встряхивания 40 минут. Экстракт фильтровали через двойной фильтр средней плотности на воронке Бюхнера с помощью вакуума. Осадок промывали дважды по 30 мл ацетонитрила, объединенный экстракт переносили в делительную воронку (250 мл), затем дважды промывали 20 мл гексана, встряхивая по 2 минуты. Ацетонитрильную фракцию упаривали досуха на ротационном испарителе при температуре не выше 40 °С. Схема процедуры пробоподготовки образцов орехов проиллюстрирована на рисунке 2.

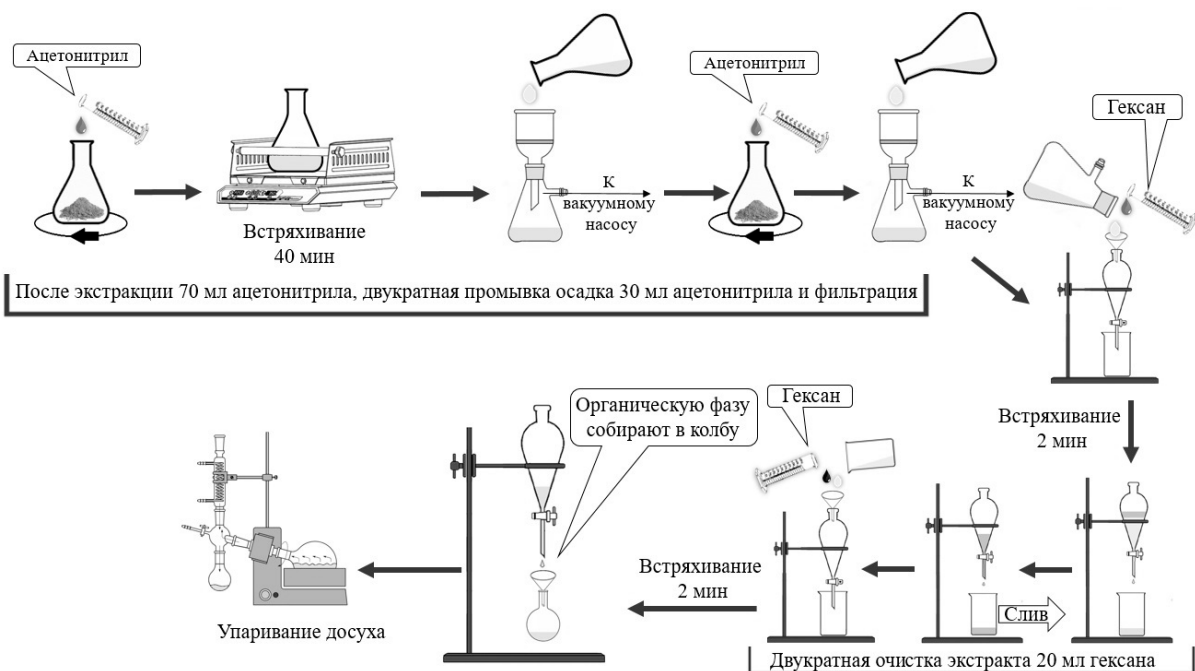


Рисунок 2 – Схема процедуры экстракции тетрациклина из образцов орехов

Полученные из разных матриц сухие остатки растворяли в 3 мл смеси гексан – этилацетат (соотношение 8 : 2 по объему), выдерживая колбу 60 секунд на ультразвуковой бане. Раствор наносили на колонку с флорисилом, затем колбу дважды ополаскивали порциями по 3 мл той же смеси и наносили на колонку. Пробу промывали 40 мл смеси гексан – этилацетат (соотношение 8 : 2 по объему), элюат отбрасывали. Тебуконазол элюировали 80 мл смеси гексан – этилацетат (соотношение 4 : 6 по объему) в круглодонную колбу (150 мл) со скоростью 1-2 капли/сек, затем упаривали досуха при температуре до 35 °С. Такой подход обеспечил эффективное удаление загрязнений и получение чистого экстракта для последующего хроматографического анализа. Сухой остаток после упаривания растворяли в 1 мл ацетона и анализировали методом ГЖХ (рисунок 3).

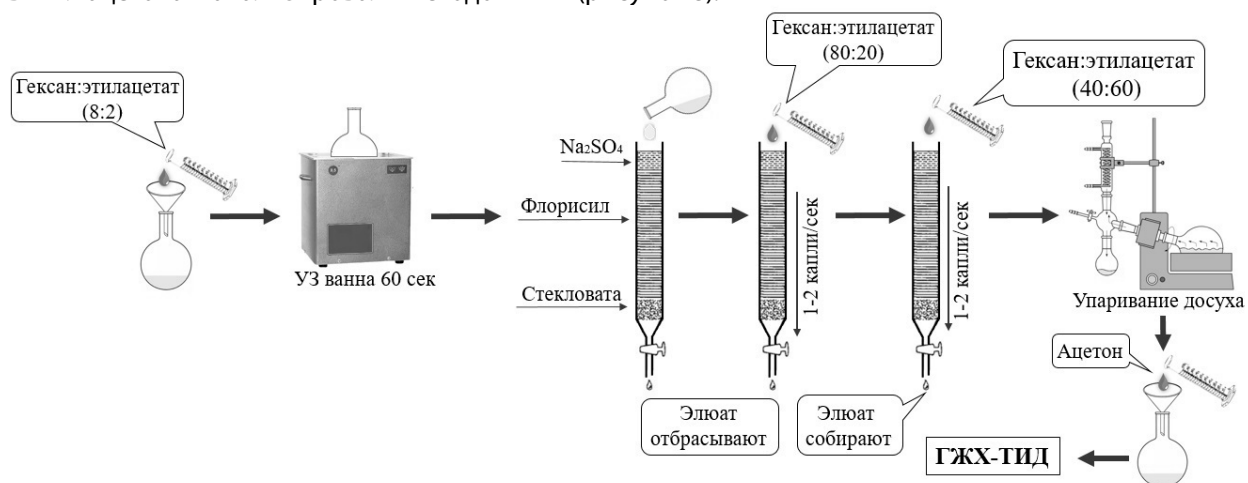


Рисунок 3 – Схема процедуры очистки экстрактов исследуемых матриц на колонке с флорисилом

Газохроматографическая идентификация проводилась в условиях программируемой температуры с использованием капиллярной колонки. Температура испарителя составляла 260 °С, а детектора – 320 °С. Начальная температура колонки была установлена на 150 °С с выдержкой в 1 минуту, затем колонку нагревали до 235 °С со скоростью 20 °С/мин и далее до 270 °С со скоростью 3 °С/мин, что обеспечило оптимальное разрешение анализа. Газ-носитель: азот, подаваемый со скоростью 1,35 мл/мин, это гарантировало прохождение стабильного потока через хроматографическую колонку и повышало точность анализа. Объем вводимого образца составлял 2 мкл, что соответствует требованиям к чувствительности метода. При проведении анализа особое внимание уделялось настройке и контролю потока газа, температурным условиям и скорости программирования, что продемонстрировано полученной точностью и надежностью получаемых результатов.

Контроль тебуконазола в образцах осуществлялся по содержанию действующего вещества после его извлечения из анализируемых образцов смесью ацетон – вода (соотношение 2 : 1 по объему) или ацетонитрилом, очистки экстрактов в системе несмешивающихся растворителей и на колонке с флорисилом.

Метод был валидирован в соответствии с предъявляемыми нормативной документацией требованиями [6], которые включают установление таких показателей, как линейность градуировочной характеристики (калибровки), специфичность, нижний предел количественного определения, полнота извлечения (открываемость), внутрилабораторная сходимость (повторяемость).

Для оценки достоверности определения вещества в пробе использовали метод добавок («внесено – найдено»), позволяющий достичь более точного количественного определения и исключить влияние матричной основы на величину аналитического сигнала.

Количественную оценку полноты извлечения из анализируемых матриц проводили путем анализа 20 образцов с добавлением тебуконазола на четырех уровнях концентраций, соответствующих диапазону определяемых концентраций метода. Линейность оценивалась на основании калибровочного графика, построенного для диапазона концентраций 0,25–2,5 мкг/мл, подтверждая прямолинейную зависимость между концентрацией и откликом детектора. Для оценки точности и воспроизводимости проводились многократные измерения образцов с внесением тебуконазола. Было рассчитано среднеквадратичное отклонение, а также погрешность измерения концентраций, которая не превышала допустимых значений (< 50 %) [7, 8].

Статистический анализ включал определение средней величины и среднего квадратичного отклонения по результатам исследования модельных проб с внесением тебуконазола с использованием программы Microsoft Excel.

Нижний предел количественного определения метода во всех исследуемых матрицах был установлен на уровне 0,01 мг/кг, что обеспечивает надлежащий контроль остаточных количеств тебуконазола в растительной продукции в соответствии с установленными нормативами.

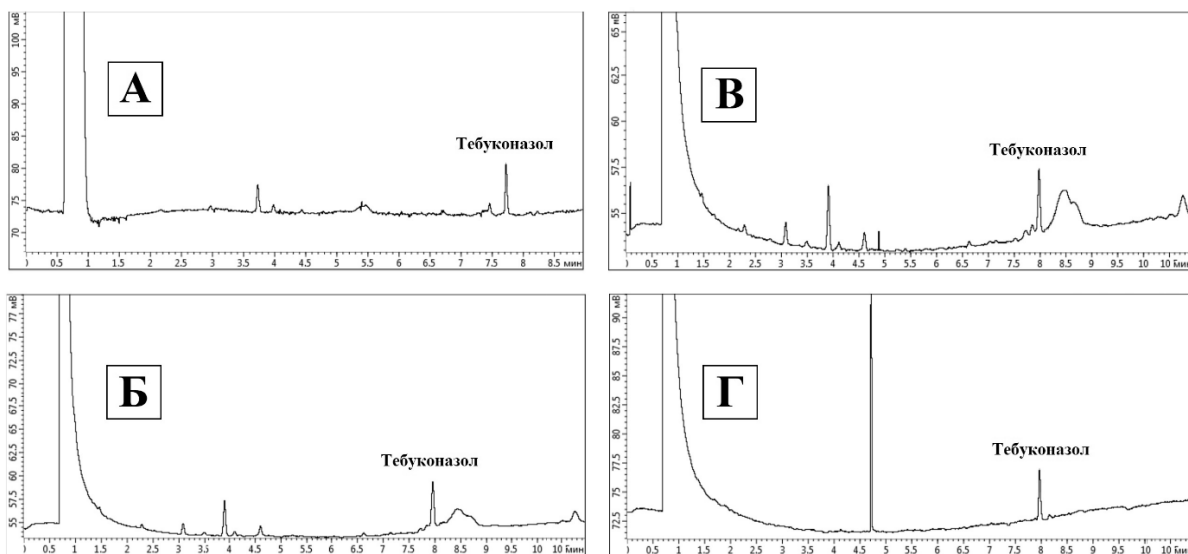
Результаты и их обсуждение. Полнота извлечения тебуконазола из различных матриц была количественно оценена в ходе экспериментов и показала незначительные различия в зависимости от типа матрицы. Для плодов цитрусовых средняя полнота извлечения составила 87 %, для сока цитрусовых 85 %, что связано с различиями в химическом составе этих матриц и степенью коэкстрактивного воздействия компонентов. Для плодовых косточковых средняя полнота извлечения составила 86 %, для плодовых семечковых 87 %, для древесных орехов 89 %.

Основные источники систематических ошибок связаны с пробоподготовкой, особенно на этапах экстракции и очистки экстрактов. Различия в полноте извлечения между плодами и соками объясняются более высоким содержанием растворимых веществ в соках, что может снижать эффективность экстракции тебуконазола. Для минимизации негативного влияния матричных компонентов использовался дополнительный этап очистки на колонке с флорисилом, что позволило значительно уменьшить влияние мешающих веществ и повысить точность анализа в подобранных условиях хроматографирования.

Хроматографический анализ экстрактов, полученных из различных матриц, подтвердил высокую специфичность и чувствительность метода. Для экстрактов плодов цитрусовых и соков наблюдались различия в составе коэкстрактивных веществ, которые могли вызывать незначительные интерференции пиков. Однако корректировка соотношения растворителей как на стадии экстракции, так и на этапе очистки на колонке позволила значительно уменьшить влияние коэкстрактивных веществ на результаты анализа. Благодаря этому метод показал стабильные и воспроизводимые результаты для каждой матрицы, независимо от их различий.

Эти показатели демонстрируют высокую эффективность метода экстракции и подтверждают, что разработанный алгоритм пробоподготовки обеспечивает надежность результатов и снижает систематические ошибки при количественном анализе.

На рисунке 4 представлены репрезентативные хроматограммы тебуконазола, внесенного в исследуемые матрицы, на уровне нижнего предела количественного определения метода. По оси абсцисс показано время (мин), по оси ординат – единица отклика.



А – плодовые семечковые (яблоки),
Б – плодовые косточковые (слива),

В – цитрусовые (плоды),
Г – орехи (фундук).

Рисунок 4 – Хроматограммы проб образцов с внесением вещества на уровне нижнего предела количественного определения (0,01 мг/кг)

Метод показал высокую воспроизводимость результатов: среднеквадратичное отклонение не превышало 5 % для всех исследуемых матриц, что доказывает его надежность и пригодность для регулярного мониторинга как отечественной, так и импортируемой продукции.

Заключение. Предложенный метод капиллярной газожидкостной хроматографии с термоионным детектированием показал высокую эффективность для количественного определения тебуконазола в растительных матрицах, включая плоды цитрусовых, косточковых и семечковых культур, а также древесные орехи, с нижним пределом 0,01 мг/кг. Метод характеризуется высокой точностью, воспроизводимостью и специфичностью, что обеспечивает его соответствие гигиеническим стандартам и делает доступным для использования в аналитических лабораториях, занимающихся контролем содержания пестицидов в пищевой продукции. Применение адаптированной пробоподготовки для различных матриц позволяет минимизировать систематические ошибки, гарантируя надежность результатов.

Литература

1. О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения : Федер. закон от 30 марта 1999 г. № 52-ФЗ // КонсультантПлюс. Россия : справ. правовая система (дата обращения: 03.10.2024).
2. Direct Farm : [сайт]. – Москва, 2024. – URL: <https://direct.farm> (дата обращения: 03.10.2024).
3. Министерство сельского хозяйства Российской Федерации : архивные данные [сайт]. – URL: <https://mcx.gov.ru/upload/iblock/720/0e6rg7j6i5ejpyjfdvsvr1oc5sar2ik.zip> (дата обращения: 03.10.2024).
4. Turner, J. A. The pesticide manual : a world compendium / J. A. Turner. – 17th ed. – Alton : BCPC, 2015. – 1357 p.
5. СанПиН 1.2.3685-21. Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания : утв. постановлением Гл. гос. санитар. врача Рос. Федерации от 28 янв. 2021 г. № 2 // КонсультантПлюс. Россия : справ. правовая система (дата обращения: 03.10.2024).
6. SANTE/11312/2021. Analytical Quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. Supersedes Document No. SANTE/2019/12682. Implemented by 01/01/2022. – URL: https://food.ec.europa.eu/system/files/2023-11/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2021-11312.pdf (date of access: 03.10.2024).
7. Методики (методы измерения). Государственная система обеспечения единства измерений : ГОСТ Р 8.563-2009. – Введ. 15.12.2009. – М. : Стандартинформ, 2011. – 15 с.
8. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа : РМГ 61-2010. – Введ. 13.12.2011 // КонсультантПлюс. Россия : справ. правовая система (дата обращения: 03.10.2024).

Larkina M. V., Kurpedinov K. C., Molchanov M. D.

METHODOLOGICAL APPROACHES TO DETERMINING OF TRIAZOLE FUNGICIDE CONTENT IN PLANT MATRICES OF VARIOUS COMPOSITIONS

Federal Budgetary Establishment of Science «Federal Scientific Center of Hygiene named after F. F. Erisman» of the Federal Service for Surveillance on Consumer Protection and Human Wellbeing, Mytishchi, Russia

The study presents an investigation into the determination of residual amounts of the triazole fungicide tebuconazole in citrus fruits (whole fruits and juice), stone fruits, pome fruits, and tree nuts using gas chromatography with a capillary column (hereinafter – GLC).

In the context of increasing production and import volumes, along with stricter hygiene standards for food, the development and implementation of high-precision analytical methods play a crucial role in the food safety control system, which underscores the relevance of this research.

The presented work provides a detailed description of the sample preparation stages and the conditions for chromatographic analysis. The developed method achieved a lower limit of quantification for tebuconazole at 0.01 mg/kg across all matrices, which complies with contemporary domestic and international standards. The results obtained confirm the high sensitivity of the proposed methodology; however, the method's accuracy was 50 %, which aligns with the requirements of current regulatory documentation, making the developed method applicable for ensuring the safety of plant-based food products.

Keywords: tebuconazole, gas-liquid chromatography, citrus fruits, stone fruits, pome fruits, juice, nuts, residues, safety of plant products.

References

1. On the sanitary and epidemiological welfare of the population: Feder. zakon ot 30 marta 1999 g. № 52-FZ. Available at: Konsul'tantPlyus. Rossiya: Sprav. pravovaya sistema (accessed 3 October 2024). (In Russian).
2. Direct Farm. Available at: <https://direct.farm/> (accessed 3 October 2024).
3. Ministry of Agriculture of the Russian Federation. Data archive. Available at: <https://mcx.gov.ru/upload/iblock/720/0e6rg7j6i5ejepyjfdvsvr1oc5sar2ik.zip> (accessed 3 October 2024).
4. Turner J. A. The Pesticide Manual : a world compendium. 17th ed. Alton: BCPC; 2015.
5. SanPiN 1.2.3685-21. Hygienic standards and requirements for ensuring safety and (or) harmlessness to humans of environmental factors. Available at: Konsul'tantPlyus. Rossiya: Sprav. pravovaya sistema (accessed 3 October 2024). (In Russian).
6. SANTE/11312/2021. Analytical Quality Control and Method Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed. Available at: https://food.ec.europa.eu/system/files/2023-11/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2021-11312.pdf (date of access: 03.10.2024).
7. State Standard R 8.563-2009. Techniques (measurement methods). State system for ensuring the uniformity of measurements. Moscow: Standartinform Publ.; 2010. (In Russian).
8. RMG 61-2010. Indicators of Accuracy, Correctness, Precision of Methods of Quantitative Chemical Analysis. Available at: Konsul'tantPlyus. Rossiya: Sprav. pravovaya Sistema (accessed 3 October 2024). (In Russian).

e-mail для переписки: marussia888@yandex.ru

Поступила 07.10.2024

УДК 543.26:661.742.14

Лебединская К. С., Крымская Т. П., Чеботкова Д. В., Гук Д. Л.

МЕТОДИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ВЫБОРУ СОРБЕНТА ДЛЯ ОДНОВРЕМЕННОГО КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ ИЗ ВОЗДУХА РАБОЧЕЙ ЗОНЫ МЕТИЛАКРИЛАТА, МЕТИЛМЕТАКРИЛАТА И НИТРИЛА АКРИЛОВОЙ КИСЛОТЫ С ИХ ПОСЛЕДУЮЩИМ ТЕРМОДЕСОРБЦИОННЫМ ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМ АНАЛИЗОМ

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Разработан методический подход к выбору сорбента для одновременного концентрирования из воздуха рабочей зоны метилакрилата, метилметакрилата и нитрила акриловой кислоты с их последующим термодесорбционным газохроматографическим анализом. Подход базируется на сравнении различных типов сорбентов по следующим характеристикам: фоновые уровни загрязняющих веществ, выделяемых из сорбента; величина сорбции/десорбции целевых компонентов; гидрофильность/гидрофобность материала сорбентов, эффективность десорбции. Для извлечения метилакрилата, метилметакрилата и нитрила акриловой кислоты из воздуха рабочей зоны использование комбинированного сорбента Tenax GR/Carborack B/Carbosieve S-III является оптимальным. Данный тип комбинированного сорбента обладает высоким сродством к акрилатам и хорошей сорбирующей/десорбирующей способностью, что позволяет повысить чувствительность метода.

Ключевые слова: воздух рабочей зоны, метилакрилат, метилметакрилат, нитрил акриловой кислоты, сорбент, термодесорбция, газовая хроматография.

Введение. Метилакрилат, метилметакрилат и нитрил акриловой кислоты (далее – МА, ММА, НАК) – производные акриловой кислоты, представляющие собой соли и сложные эфиры – широко применяются в производстве акриловых полимеров (синтетических волокон, синтетического каучука, искусственной шерсти), органического стекла («небьющегося стекла»), пластических бинтов и пластырей, также их используют как химические добавки для улучшения качества и расширения ассортимента изделий легкой промышленности (увеличение прочности изделий).

МА, ММА и НАК поступают в воздух с выбросами промышленных предприятий. В условиях производства данные вещества могут находиться не только в парообразном состоянии, но также в виде капель (разбрызгивание при транспортировке, нарушение целостности аппаратуры).

Пути поступления МА, ММА и НАК в организм человека – ингаляционный, перкутанный – через неповрежденную кожу (в меньшей степени), совсем редко – пероральный.

ММА (3 класс опасности) по характеру действия – наркотик. Наркотические и смертельные концентрации почти совпадают [1]. Ведущее место в клинической картине хронического отравления ММА занимает симптомокомплекс поражения нервной системы. МА (3 класс опасности) также обладает общетоксическим действием, попадая в организм человека, он поражает центральную нервную и дыхательную системы, желудочно-кишечный тракт, печень, почки, органы зрения [2]. НАК в организме сорбируется в дыхательных путях человека и под влиянием фермента роданезы гидролизуется в печени с образованием роданида. Обладает общетоксическим действием, вызывая тканевую гипоксию, раздражая кожу и слизистые оболочки [1]. Международным агентством по изучению рака НАК классифицирован как «возможно» канцероген (класс 2В) для человека.

Все вышеизложенное обосновывает необходимость в проведении систематического контроля за содержанием МА, ММА и НАК в воздухе рабочей зоны промышленных предприятий по производству акриловых мономеров и полимеров на их основе точными и высокочувствительными методами.

Для анализа воздушной среды широко применяются современные методы отбора проб воздуха [3–6]. В частности, использование сорбционных трубок становится все более популярным благодаря их эффективности и точности. Сорбционные трубки позволяют концентрировать летучие органические соединения и другие загрязнители из воздуха, что значительно упрощает последующий анализ с использованием таких методов, как газовая хроматография (далее – ГХ). Этот подход обеспечивает высокую чувствительность и позволяет определять низкие концентрации веществ, что критически важно для экологического мониторинга и оценки качества воздушной среды. Так, методика М 10 [3] основана на одновременном улавливании НАК из газовых выбросов в сорбционные трубки-концентраторы из нержавеющей стали с полимерным сорбентом (полисорб-1, полисорб-10, полидифенилфталид) и последующей термодесорбцией. В зависимости от концентрации вещества отбирают от 100 до 500 см³ газозвушной пробы. Измерение концентраций НАК по МУК 4.1.1044а-01 [4] основано на газохроматографическом разделении на стеклянной колонке и детектировании азотно-фосфорным детектором (далее – АФД) с предварительным концентрированием НАК из воздуха на стеклянные сорбционные трубки, заполненные сорбентом Chromosorb 106 или 103. Однако детектирование с использованием АФД не позволяет одновременно определять МА, ММА и НАК, т. к. предназначено для селективного определения фосфор- и азотсодержащих органических соединений. Коллективом специалистов НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А. М. Сысина (Россия) разработаны МУК 4.1.620-96 [5], согласно которым измерения концентраций МА выполняют методом ГХ с пламенно-ионизационным детектором (далее – ПИД). Концентрирование веществ из воздуха осуществляют методом улавливания паров на твердый сорбент Полисорб-1. Методические указания МУК 4.1.2977-12 [6] для отбора воздушных проб при анализе летучих органических соединений используют твердый сорбент Tenax TA, который расширяет возможности методики, увеличивая количество одновременно определяемых соединений.

Таким образом, большинство существующих методик определения концентрации МА, ММА и НАК в воздухе базируются на извлечении целевых компонентов из сорбента в трубках-концентраторах термодесорбцией в автоматических и полуавтоматических системах или непосредственно в испарителе хроматографа. Однако для достижения наилучших результатов десорбции аналитов следует учитывать природу и свойства сорбента. Подходящий сорбционный материал будет улавливать и возвращать целевые компоненты (сконцентрированные за время пробоотбора) без термодеструкции пробы.

Разработка подхода к совместному определению МА, ММА и НАК, основанному на концентрировании целевых соединений на твердом сорбенте с последующим термодесорбционным анализом, имеет несколько ключевых преимуществ, таких как экономия времени (одновременное определение МА, ММА и НАК позволяет значительно сократить время на анализ); повышение точности (за счет использования сорбента, обеспечивающего наилучшую сорбцию/десорбцию исследуемых веществ и отсутствие их термодеструкции); консистентность результатов (использование одной и той же методологии для одновременного анализа МА, ММА и НАК помогает обеспечить более однородные условия испытаний, что повышает воспроизводимость результатов); упрощение процесса (сокращение количества этапов анализа уменьшает вероятность ошибок, связанных с человеческим фактором, и упрощает общий процесс исследования).

Цель работы – выбор эффективного сорбента для одновременного концентрирования МА, ММА, НАК из воздуха рабочей зоны, а также исследование его возможностей для термодесорбции данных веществ.

Материалы и методы. Объектами исследований являлись модельные пробы – металлические сорбционные трубки с различными типами сорбентов с внесенным стандартным раствором совместного содержания МА, ММА и НАК в массовой концентрации 1 мг/см³ и 10 мг/см³ для каждого вещества. Для измерения массовых концентраций МА, ММА и НАК в процессе сорбции/десорбции из модельных проб применяли газовый хроматограф «Кристалл 5000.2» (ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия). Хроматограф был оснащен двумя ПИД и термодесорбером двухстадийным ТДА-1 (ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия), двумя капиллярными колонками: для определения НАК – полярной ZB-Wax (длиной 60 м, внутренним диаметром 0,53 мм, со слоем неподвижной жидкой фазы карбовакс 20М, толщиной 1,0 мкм); для определения МА и ММА – слабополярной DB-624 (длиной 60 м, внутренним диаметром 0,53 мм, со слоем неподвижной жидкой фазы из 6% цианопропилфенила и 94% диметилполисилоксана, толщиной 3,0 мкм).

Изучены различные типы и марки сорбентов: Полисорб-1 (0,25–0,50 меш, ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия), активированный уголь (ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия), Porapak™ N (50/80 меш, ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия), Porapak™ Q (50/80 меш, ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия), Porapak™ T (50/80 меш, ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия), Tenax® GR (60/80 меш, ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия), Chromosorb 106 (60/80 меш, ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия), Chromosorb 101 (60/80 меш, ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия), трехсекционные трубки на основе Tenax® GR (35/60 меш), Carborapak™ B (60/80 меш) и Carbosieve® S-III (60/80 меш, ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия).

Условия работы термодесорбера двухстадийного ТДА-1: время десорбции – 8 мин, температура десорбции – 250 °С, нижняя температура ловушки – –10 °С, верхняя температура ловушки – 300 °С, скорость нагрева ловушки – 500 °С/мин.

Условия проведения газохроматографического анализа: температура детектора – 250 °С, испарителя – 220 °С, нагревание разделительных колонок должно происходить в градиентном режиме (температура 1-го изотермического участка составляет 45 °С, его длительность – 7 мин, температура 2-го изотермического участка – 135 °С, его длительность – 0 мин, при этом скорость программирования температуры устанавливается на уровне 20 °С/мин, температура 3-го изотермического участка – 220 °С, его длительность – 7 мин, при этом скорость программирования температуры устанавливается на уровне 20 °С/мин), давление на входе в колонку составляет 52,6 кПа, расход газа-носителя (азота) на поддув детектора происходит со скоростью 50 см³/мин, расход водорода – 50 см³/мин, расход воздуха – 500 см³/мин, общее время анализа составляет 36,25 мин.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью функций программы Microsoft Excel.

Результаты и их обсуждение. Требования к измерению массовых концентраций МА, ММА и НАК в воздухе взяты из ГОСТ ISO 16000-6-2016 [7], в котором определение загрязняющих веществ проводится путем прокачивания через одну (или более) трубку, содержащую сорбент Tenax TA®. Летучие органические соединения удерживаются сорбционной трубкой и впоследствии десорбируются при нагревании и переносятся в атмосфере инертного газа-носителя через охлаждаемую сорбционную ловушку на вход в газовый хроматограф, оснащенный одной или несколькими капиллярными колонками и пламенно-ионизационным и/или масс-спектрометрическим детектором.

Сравнение различных типов сорбентов было проведено по следующим характеристикам: фоновые уровни загрязняющих веществ, выделяемых из сорбента; величина сорбции/десорбции целевых компонентов; гидрофильность/гидрофобность материала сорбентов и эффективность десорбции.

Анализ фона газовой выделений из сорбента на наличие загрязняющих веществ является важным и первичным этапом при разработке методики, т. к. на этапе термодесорбции могут происходить процессы разложения сорбента. Сорбенты Полисорб-1, Активированный уголь, Porapak N, Porapak Q, Porapak T, Tenax GR, Chromosorb 106, Chromosorb 101 и комбинированный Tenax GR/Carborapak B/Carbosieve S-III анализировали при условиях работы термодесорбера и газохроматографического анализа, указанных выше. Полученные хроматограммы фона газовой выделений из перечисленных сорбентов в процессе термодесорбции представлены на рисунках 1 и 2.

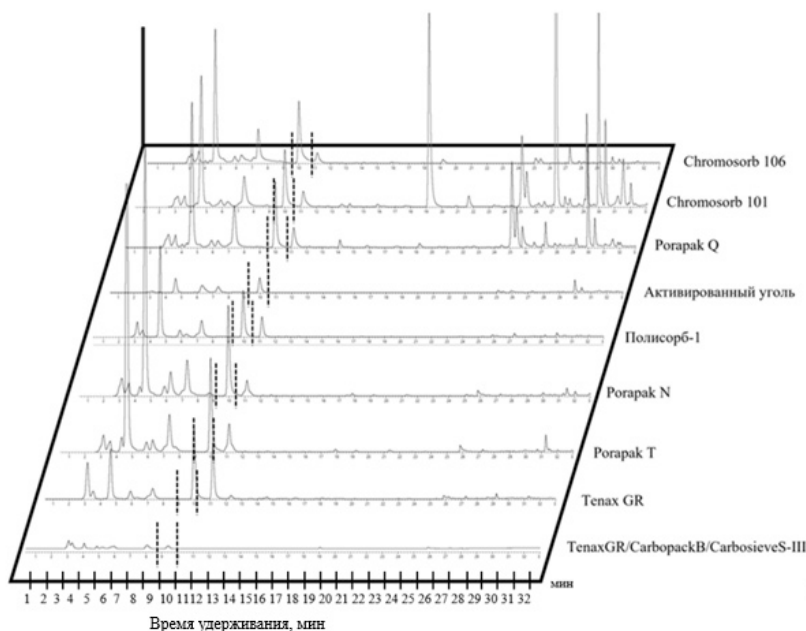


Рисунок 1 – Хроматограммы фона газыделений из различных сорбентов в процессе термодесорбции, полученные на колонке ZB-Wax

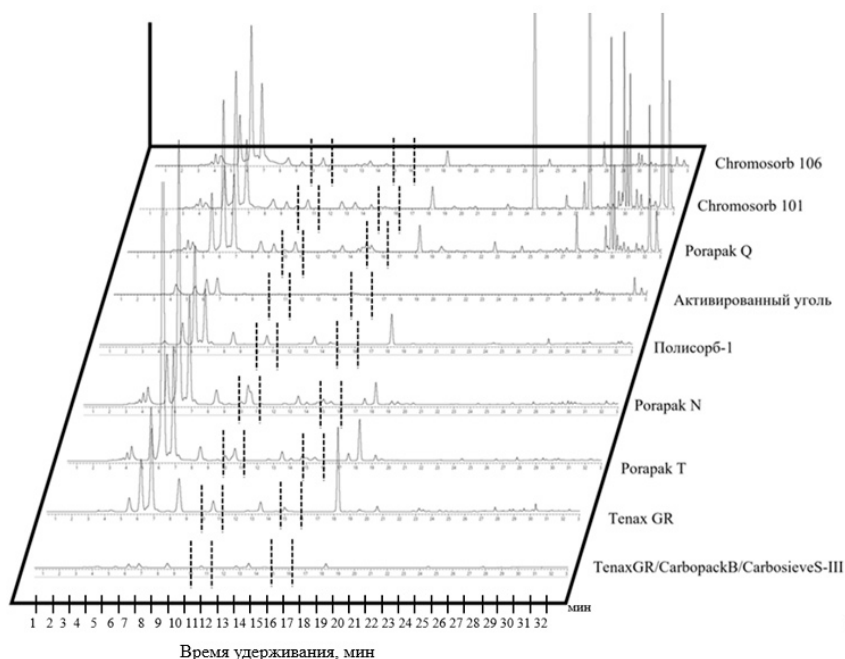


Рисунок 2 – Хроматограммы фона газыделений из различных сорбентов в процессе термодесорбции, полученные на колонке DB-624

Как показали исследования (рисунки 1 и 2), по остаточному фону газыделений сорбенты Chromosorb 101, Chromosorb 106, Porapak Q, Porapak N являются неприемлемыми для исследований, поскольку применение данных сорбентов осложнено наличием на хроматограммах пиков артефактов в диапазоне времен удерживания НАК на колонке ZB-Wax ($9,463 \pm 0,094$ мин) и МА, ММА на колонке DB-624 ($10,751 \pm 0,108$ мин и $15,575 \pm 0,156$ мин соответственно).

Для анализа показателя величины сорбции/десорбции МА, ММА и НАК из сорбентов Полисорб-1, Активированный уголь, Porapak T, Tenax GR и комбинированного Tenax GR/Carbopack B/Carbosieve S-III готовили стандартный раствор совместного содержания МА, ММА и НАК в массовой концентрации 1 мг/см^3 для каждого вещества. В качестве растворителя использовали ацетон. Ввод стандартных растворов на сорбенты сорбционных трубок в потоке газа-носителя (азота) осуществляли с помощью устройства ввода в объеме 1 мм^3 . Продувочным газом (азотом) отдували растворитель

из сорбента в течение 2 мин. После продувки сорбционную трубку доставали из устройства и помещали в термостат термодесорбера. Величину сорбции/десорбции МА, ММА и НАК из сорбентов устанавливали после термосорбционного хроматографического анализа по значениям величин аналитических сигналов (площадям хроматографических пиков).

В ходе проведения эксперимента наибольшие значения аналитических сигналов МА, ММА и НАК в массовой концентрации 1 мг/см³ для каждого вещества были установлены для комбинированного сорбента Tenax GR/Carbopack B/Carbosieve S-III и приняты за 100 %. Для остальных сорбентов был введен показатель «относительная величина сорбции/десорбции», отражающий процент от площадей хроматографических пиков МА, ММА и НАК в массовой концентрации 1 мг/см³ для каждого вещества при использовании комбинированного сорбента Tenax GR/Carbopack B/Carbosieve S-III. Полученные результаты эксперимента представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Величины аналитических сигналов стандартного раствора совместного содержания МА, ММА и НАК в массовой концентрации 1 мг/см³ для каждого вещества после термодесорбции из сорбентов Полисорб-1, Активированный уголь, Porapak T, Tenax GR и комбинированного Tenax GR/Carbopack B/Carbosieve S-III и хроматографического разделения на колонках ZB-Wax и DB-624

Вещество	Сорбент	ZB-Wax	DB-624	Относительная величина сорбции/десорбции, %	
		S, мВ × мин	S, мВ × мин	ZB-Wax	DB-624
НАК	Активированный уголь	8 418	–	44,5	–
	Полисорб-1	17 670	–	93,4	–
	Porapak T	14 203	–	75,1	–
	Tenax® GR/ CarbopackB/ Carbosieve® S-III	18 907	–	100	–
	Tenax® GR	18 104	–	95,6	–
МА	Активированный уголь	–	2 618	–	13,1
	Полисорб-1	–	19 280	–	96,1
	Porapak T	–	14 017	–	69,9
	Tenax® GR/ Carbopack™ B/ Carbosieve® S-III	–	20 060	–	100
	Tenax® GR	–	20 183	–	100,6
ММА	Активированный уголь	–	190	–	1,1
	Полисорб-1	–	16 043	–	95,3
	Porapak T	–	10 677	–	63,4
	Tenax® GR/ CarbopackB/ Carbosieve® S-III	–	16 835	–	100
	Tenax® GR	–	12 159	–	72,2

Как видно из таблицы 1, моносорбенты Porapak T и Активированный уголь показали наименьшие значения относительной величины сорбции/десорбции для МА, ММА и НАК, что говорит о том, что сорбенты обладают самой малой сорбцией к целевым соединениям. Результаты исследований указывают на эффективность применения для отбора проб воздуха сорбентов Полисорб-1, Tenax GR и комбинированного сорбента Tenax GR/Carbopack B/Carbosieve S-III. Для дальнейших исследований был выбран последний, поскольку он продемонстрировал наивысшие показатели сорбции/десорбции для одновременного концентрирования МА, ММА и НАК.

Гидрофобность сорбента характеризуется удельным удерживаемым объемом воды. На основании литературных данных [8] сорбенты Tenax и Carbopack относятся к гидрофобным и обладают отрицательной влагоудерживающей способностью. Таким образом, эти сорбенты подходят для отбора проб при любых условиях влажности, включая насыщенные водой пробы, такие как пробы в закрытых помещениях или для продувки с улавливанием. Сорбент Carbosieve S-III можно рассматривать как ограниченно подходящий, поскольку, являясь гидрофильным сорбентом, может удерживать некоторое количество влаги, в частности, при высокой относительной влажности.

Эффективность десорбции определяли как частное в результате деления отклика, полученного при анализе сорбционной трубки с комбинированным сорбентом Tenax GR/Carbopack B/Carbosieve S-III, на отклик, полученный при введении стандартного раствора совместного содержания МА, ММА и НАК в массовой концентрации 1 и 10 мг/см³ для каждого вещества непосредственно в хроматограф.

При проведении двухстадийной термодесорбции могут происходить незначительные потери, связанные с двойным процессом сорбции/десорбции сначала с твердого сорбента сорбционной трубки, затем с фокусирующей ловушки, вследствие этого эффективной считаем десорбцию на уровне $\geq 70\%$.

Величины аналитических сигналов и рассчитанные величины эффективности десорбции (в %) приведены в таблицах 2 и 3 соответственно.

Таблица 2 – Величины аналитических сигналов (площадей хроматографических пиков) стандартного раствора совместного содержания МА, ММА и НАК в массовой концентрации 1 мг/см³ для каждого вещества после термодесорбции из комбинированного сорбента Tenax GR/Carbopack B/Carbosieve S-III

Вещество	Отклик, полученный при анализе сорбционной трубки		Отклик, полученный при анализе через хроматограф		Эффективность десорбции, %	
	ZB-Wax	DB-624	ZB-Wax	DB-624		
	S, мВ × мин	S, мВ × мин	S, мВ × мин	S, мВ × мин	ZB-Wax	DB-624
НАК	19 139	–	22 494	–	85,1	–
МА	–	14 060	–	16 392	–	85,8
ММА	–	16 835	–	19 118	–	88,1

Таблица 3 – Величины аналитических сигналов (площадей хроматографических пиков) стандартного раствора совместного содержания МА, ММА и НАК в массовой концентрации 10 мг/см³ для каждого вещества после термодесорбции из комбинированного сорбента Tenax GR/Carbopack B/Carbosieve S-III

Вещество	Отклик, полученный при анализе сорбционной трубки		Отклик, полученный при анализе через хроматограф		Эффективность десорбции, %	
	ZB-Wax	DB-624	ZB-Wax	DB-624		
	S, мВ × мин	S, мВ × мин	S, мВ × мин	S, мВ × мин	ZB-Wax	DB-624
НАК	17 1326	–	237 689	–	72,1	–
МА	–	126 201	–	167 122	–	75,5
ММА	–	155 691	–	202 106	–	77,0

Исходя из результатов, представленных в таблицах 2 и 3, эффективность десорбции МА, ММА и НАК с сорбента Tenax GR/Carbopack B/Carbosieve S-III принимается удовлетворительной.

Заключение. Таким образом, установлено, что сорбент на основе Tenax GR/Carbopack B/Carbosieve S-III является оптимальным для одновременного концентрирования МА, ММА и НАК из воздуха рабочей зоны, поскольку представляет собой гидрофобный материал, который характеризуется минимальным фоновым уровнем загрязняющих веществ, высоким значением величины сорбции/десорбции и оптимальной эффективностью сорбции/десорбции.

Сведения о НИР. НИР «Разработать и внедрить метрологически аттестованную методику измерений массовых концентраций нитрила акриловой кислоты, метилакрилата и метилметакрилата в воздухе рабочей зоны для обеспечения гигиенической безопасности рабочих мест» подпрограммы «Безопасность среды обитания человека» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», 2021–2025 годы, регистрационный номер 20231670.

Литература

1. Вредные вещества в промышленности : справочник для химиков, инженеров и врачей : в 3 т. / под ред.: Н. В. Лазарева, Э. Н. Левина. – 7-е изд. – Л. : Химия, 1976–1977. – Т. 2 : Органические вещества / под ред.: Н. В. Лазарева, Э. Н. Левина. – 1976. – 624 с.

2. Цианистые соединения / под ред.: В. К. Варова, И. А. Воробьева, А. Ф. Зубкова, Н. Ф. Измерова // Российская энциклопедия по охране труда : в 3 т. – 2-е изд. – М., 2007. – Т. 3.

3. М-10 Методика выполнения измерений массовой концентрации хлорсодержащих органических соединений (метилхлорида, хлороформа, дихлорэтана, четыреххлористого углерода, эпихлоргидрина, трихлорэтилена, тетрахлорэтилена), а также ацетальдегида и акрилонитрила в промышленных выбросах в атмосферу методом газовой хроматографии с использованием универсального многоразового пробоотборника / ООО Научно-производственная и проектная фирма ЭКОСИСТЕМА. – СПб., 1999. – 14 с.

4. Газохроматографическое определение акрилонитрила, ацетонитрила, диметиламина, диметилформамида, диэтиламина, пропиламина, триэтиламина и этиламина в воздухе : метод. указания МУК 4.1.1044а-01 / М-во здравоохранения Российской Федерации – М., 2001. – 12 с.

5. Методические указания по газохроматографическому определению метилакрилата в атмосферном воздухе : метод. указания МУК 4.1.620-96 // Определение концентраций загрязняющих веществ в атмосферном воздухе : сб. метод. указаний. – М., 1997. – С. 238–243.

6. Измерение массовых концентраций бутан-1-ола (бутанола), бутилпроп-2-еноата (бутилакрилата), метанола, метилпроп-2-еноата (метилакрилата), проп-2-ен-1-оля (акролеина), проп-2-еноата (этилакрилата) в воздухе рабочей зоны газохроматографическим методом: метод. указания МУК 4.1.2977-12 // Измерение концентраций вредных веществ в воздухе рабочей зоны : сб. метод. указаний – М., 2012. – С. 27–42.

7. Воздух замкнутых помещений. Часть 6. Определение летучих органических соединений в воздухе замкнутых помещений и испытательной камеры путем активного отбора проб на сорбент Tenax TA с последующей термической десорбцией и газохроматографическим анализом с использованием МСД/ПВД : ГОСТ ISO 16000-6-2016. – Введ. 01.12.2017. – М. : Стандартинформ, 2017. – 28 с.

8. Воздух атмосферный, рабочей зоны и замкнутых помещений. Отбор проб летучих органических соединений при помощи сорбционной трубки с последующей термодесорбцией и газохроматографическим анализом на капиллярных колонках. Часть 1. Отбор проб методом прокачки : ГОСТ Р ИСО 16017-1-2007. – Введ. 01.09.2008. – М. : Стандартинформ, 2008. – 31 с.

Lebedinskaya K. S., Krymskaya T. P., Chebotkova D. V., Guk D. L.

METHODICAL APPROACH TO THE SELECTION OF A SORBENT FOR SIMULTANEOUS METHYL ACRYLATE, METHYL METHACRYLATE AND ACRYLONITRILE CONCENTRATION FROM THE WORKING AREA AIR WITH THEIR SUBSEQUENT THERMAL DESORPTION GAS CHROMATOGRAPHIC ANALYSIS

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

A methodical approach to the choice of sorbent for simultaneous concentration of methyl acrylate, methyl methacrylate and acrylic acid nitrile from the working area air with their subsequent thermodesorption gas chromatographic analysis has been developed. The approach is based on the comparison of different types of sorbents according to the following characteristics: background levels of pollutants released from the sorbent; magnitude of sorption/desorption of target components; hydrophilicity/hydrophobicity of the sorbent material, desorption efficiency. For extraction of methylacrylate, methyl methacrylate and acrylic acid nitrile from the air of the working area the use of combined sorbent Tenax GR/Carbopack B/Carbosieve S-III is optimal. This type of combined sorbent has a high affinity for acrylates and good sorption/desorption capacity, which allows increasing the sensitivity of the method.

Keywords: working zone air, methyl acrylate, methyl methacrylate, acrylic acid nitrile, sorbent, thermal desorption, gas chromatography.

References

1. Harmful substance in industry: a guide for chemists, engineers and doctors. V. 2: Organic substances. 7th ed. L.: Chemistry; 1979. 624 p. (in Russian)

2. Cyanide compounds. Russian Encyclopedia of labor protection. V. 3. Moscow; 2007. (in Russian)

3. М-10 Methodology for measuring the mass concentration of chlorine-containing organic compounds (methylene chloride, chloroform, dichloroethane, carbon tetrachloride, epichlorohydrin, trichloroethylene, tetrachloroethylene), as well as acetaldehyde and acrylonitrile in industrial emissions into the atmosphere by gas chromatography using a universal reusable sampler. St. Petersburg; 1999.

4. Gas chromatographic determination of acrylonitrile, acetonitrile, dimethylamine, dimethylformamide, diethylamine, propylamine, triethylamine and ethylamine in air: Metod. ukazaniya MUK 4.1.1044a-01. M-vo zdravoohraneniya Ross Federatsii. Moscow; 2001.

5. Guidelines for gas chromatographic determination of methyl acrylate in atmospheric air: metod. ukazaniya MUK 4.1.620-96. M-vo zdravoohraneniya Ross Federatsii; Moscow; 1997: 238–243.

6. Measurement of mass concentrations of butan-1-ol (butanol), butylprop-2-enoate (butyl acrylate), methanol, methylprop-2-enoate (methyl acrylate), prop-2-en-1-al (acrolein), prop-2-enoate (ethyl acrylate) in the air of the working area using the gas chromatographic method: Metod. ukazaniya MUK 4.1.2977-12. Moscow: Rospotrebnadzor; 2012: 27–42.

7. Air from confined spaces. Part 6. Determination of volatile organic compounds in the air of closed rooms and test chambers by active sampling on Tenax TA sorbent followed by thermal desorption and gas chromatographic analysis using MSD/FID: GOST ISO 16000-6-2016. Moscow: Standartinform; 2017. (in Russian)

8. Atmospheric air, working area and enclosed spaces. Sampling of volatile organic compounds using a sorption tube followed by thermal desorption and gas chromatographic analysis on capillary columns. Part 1. Sampling by pumping method: GOST R ISO 16017-1-2007. Moscow: Standartinform; 2008. (in Russian)

e-mail для переписки: chromatographic@rspch.by

Поступила 07.10.2024

УДК 614.31:632.95

Федорова Н. Е., Добрева Н. И.

ПРИГОДНОСТЬ МЕТОДА МАТРИЧНОЙ ТВЕРДОФАЗНОЙ ДИСПЕРСИИ В СОЧЕТАНИИ С ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИЕЙ-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЕЙ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ХЛОРОРГАНИЧЕСКИХ ПЕСТИЦИДОВ В СОСТАВНЫХ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ, В ТОМ ЧИСЛЕ ДЛЯ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ

*Федеральное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека,
г. Мытищи, Россия*

Аннотация. Для обеспечения соблюдения нормативных требований ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции», предъявляемых к содержанию хлорорганических пестицидов (далее – ХОП) в пищевых продуктах, в особенности для детского питания, необходимо наличие точных и специфичных аналитических методик с соответствующими пределами количественного определения.

Цель работы – оценить пригодность метода матричной твердофазной дисперсии в сочетании с газовой хроматографией-масс-спектрометрией (далее – МТФД-ГХ-МС) для определения ХОП в составных пищевых продуктах, в том числе для детского питания, содержащих сырье животного и растительного происхождения.

Объектами исследования служили 6 образцов смесевых продуктов: 4 образца детского питания (содержание жира до 4 %) и 2 образца, относящиеся к молокосодержащим продуктам, содержащие до 30 % жира животного и растительного происхождения.

Полученные результаты демонстрируют пригодность метода МТФД-ГХ-МС для определения гексахлорбензола (далее – ГХБ), гексахлорциклогексана (далее – ГХЦГ) в виде α -, β -, γ -изомеров, 4,4'-дихлордифенилтрихлорэтана (далее – 4,4'-ДДТ) и его метаболитов 4, 4'-диэтилдифенилдихлорэтана (далее – 4,4'-ДДД) и 4,4'-дихлордифенилдихлорэтилена (далее – 4,4'-ДДЭ) в продукции смешанного состава с ограничением по содержанию масел растительного происхождения до 4 %.

Ключевые слова: хлорорганические пестициды; составные пищевые продукты, содержащие растительные масла; матричная твердофазная дисперсия; газовая хроматография-масс-спектрометрия.

Введение. Основными тенденциями последних лет в санитарно-гигиенической и аналитической химии при разработке методов количественного определения остаточных количеств пестицидов является внедрение принципов и элементов «зеленой химии», предусматривающих уменьшение использования токсичных реактивов, миниатюриализацию процессов, объектов исследования, расходных материалов, автоматизацию процессов пробоподготовки и инструментального анализа [1, 2]. Результатом разработки таких методов должны стать не только защита окружающей среды

и, собственно, химиков-аналитиков, проводящих анализы, но и пересмотр и актуализация методов контроля за безопасностью пищевой продукции, продовольственного сырья и объектов окружающей среды.

Хлорорганические пестициды, согласно ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» [3], подлежат обязательному декларированию во всех видах пищевой продукции и пищевого (продовольственного) сырья, так как являются стойкими органическими загрязнителями (далее – СОЗ) и входят в так называемую всемирную «грязную дюжину веществ» согласно Стокгольмской конвенции о СОЗ [4]. В эту категорию веществ входят ГХЦГ (изомеры α , β , γ), 4,4'-ДДТ и его метаболиты 4,4'-ДДД и 4,4'-ДДЭ. В отдельных видах пищевой продукции дополнительно регламентировано содержание гексахлорбензола (не более 0,01 мг/кг), в биологически активных добавках к пище не допускается присутствие гептахлора и альдрина (< 0,002 мг/кг). Особо жесткие требования в отношении веществ данного класса установлены для пищевой продукции, предназначенной для детского питания. Помимо ГХЦГ (изомеры α , β , γ), 4,4'-ДДТ и его метаболитов 4,4'-ДДД и 4,4'-ДДЭ, обязательному регламентированию подлежит еще ряд ХОП (гептахлор и его метаболит гептахлор эпоксид, гексахлорбензол, альдрин, дильдрин, эндрин и его метаболит эндрин кетон), включенных в соответствии с приложением 10 к ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» в перечень пестицидов, запрещенных для использования при производстве пищевой продукции для детского питания [3].

Действующие методы определения остаточных количеств хлорорганических пестицидов – 4,4'-ДДТ и его метаболитов, ГХЦГ (изомеры α , β , γ) – в пищевой продукции и продовольственном сырье, несмотря на достаточно высокую чувствительность, характеризуются низкой избирательностью измерения и основываются на использовании морально устаревшего оборудования, трудоемкой и экономически затратной пробоподготовки.

Для обеспечения соблюдения нормативных требований необходимо наличие точных и специфических аналитических методик с соответствующими пределами количественного определения.

Следуя тенденциям сегодняшнего дня к пересмотру и стандартизации аналитических процедур в рамках выполнения Отраслевой программы Роспотребнадзора на 2023–2025 годы была запланирована поэтапная актуализация методов контроля ХОП в пищевой продукции животного, растительного происхождения, рыбе и отдельных видах нерыбных объектов промысла. По итогам наших исследований 2023 года был разработан метод определения остаточных количеств ХОП (4,4'-ДДТ, его метаболитов 4,4'-ДДЭ и 4,4'-ДДД и ГХЦГ (изомеры α , β , γ)) в пищевых продуктах животного происхождения – МУК 4.1.3990-24 «Определение остаточных количеств хлорорганических пестицидов в отдельных видах пищевой продукции и продовольственного (пищевого) сырья животного происхождения методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием» [5]. Получен патент на промышленный образец RU 139588 Схема «Алгоритм определения содержания хлорорганических пестицидов (ХОП) в пищевых продуктах и продовольственном сырье с целью оценки их безопасности» [6].

Предложенная схема, основанная на извлечении ХОП методом МТФД, очистки экстракта концентрированной серной кислотой, измерении массовых концентраций веществ с применением ГХ-МС, позволяет с высокой степенью достоверности определять ХОП в широком перечне пищевой продукции и продовольственного сырья и обеспечивать санитарно-гигиенический контроль за содержанием этих веществ. Диапазон измеряемых массовых концентраций ХОП 0,01–1,0 мг/кг позволяет контролировать содержание данных веществ в пищевой продукции животного происхождения, указанной в ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» [3].

Актуально применить вышеописанную схему для определения ХОП в составной пищевой продукции, в том числе продуктах для детского питания.

Цель работы – оценить пригодность МТФД-ГХ-МС для определения ХОП в составных пищевых продуктах, в том числе для детского питания, содержащих сырье животного и растительного происхождения.

Материалы и методы. Используемый методический подход имеет ряд преимуществ, обеспечивающих более широкую возможность его практического применения. Он основан на использовании отечественного средства измерений (газовый хроматограф «Кристалл 5000.2» с масс-спектрометрическим детектированием) [5]. Процедура экстракции и очистки обеспечивает устранение эффекта матрицы и позволяет для количественных расчетов использовать абсолютную калибровку на растворителе, что при отсутствии соответствующего холостого образца (т. е. материала, свободного от остатков целевого анализируемого вещества) имеет существенное преимущество перед методами, требующими построение калибровки, согласованной с матрицей [7].

Объектами исследования были 6 образцов смешанных составных продуктов: 4 образца детского питания и 2 образца, относящиеся к молокосодержащим продуктам. Продукты детского питания содержали до 4 % жира. Смешанные пищевые продукты – до 30 % жира животного и растительного происхождения.

При апробации были использованы образцы пищевой продукции, приобретенные в розничной сети. В частности, 4 образца представляли собой продукты детского питания, имеющие смешанный состав: 1) жидкая кашка йогуртная из злаков с грушей и бананом для детей с возрастом 6+ месяцев, состав: сухое цельное молоко, концентрированный яблочный сок, пюре банановое, йогурт сухой обезжиренный, мальтодекстрин, мука рисовая, молоко сухое обезжиренное, мука кукурузная, пребиотик – инулин, мука пшеничная, мука гречневая, мука овсяная, пюре грушевое, натуральный ароматизатор «Банан», натуральный ароматизатор «Груша», вода; 2) биотворог клубника-банан 4 % для детей с возрастом 6+ месяцев, состав: нормализованное молоко, наполнитель (сахар; вода; пюре банана; концентрированное пюре клубники; концентрированный сок банана; кукурузный крахмал; концентрированные соки красной свеклы, моркови, лимона; натуральные ароматизаторы), закваска молочнокислых культур и бифидобактерий; 3) пюре «Тропический микс + мультизлак» для детей с возрастом 8+ месяцев, состав: пюре из яблок, пюре из бананов, сок яблочный концентрированный, пюре из манго, хлопья овсяные, мука кукурузная, мука рисовая, сок апельсиновый концентрированный, сок маракуйи концентрированный, вода питьевая; 4) пюре из индейки с овощами для детей с возрастом 8+ месяцев, состав: мясо индейки, картофель, кабачок, крупа рисовая, морковь, масло растительное, вода питьевая. Также были использованы два популярных у детей и взрослых смешанных составных продукта, содержащих молоко: сырок творожный ванильный глазированный в молочно-шоколадной глазури, состав: творог, масло сливочное, молочная шоколадная глазурь, сахар, экстракт ванили; состав глазури: молочная шоколадная глазурь (сахар, масло какао, какао тертое, обезвоженный молочный жир, сухое цельное молоко, сухая молочная сыворотка, эквивалент масла какао, эмульгаторы (соевый лецитин, E476), ароматизатор ванилин, кокосовое масло. Второй продукт пирожное бисквитное Kinder Pingui (Киндер Пингви), покрытое шоколадом, с молочной начинкой, состав: пастеризованное молоко, сахар, растительный жир, сухое обезжиренное молоко, тертое какао, пшеничная мука, масло какао, молочный жир, декстроза, обезжиренный какао-порошок, яичный порошок, дрожжи, сухое цельное молоко, эмульгаторы: моно- и диглицериды жирных кислот, лецитины; ароматизаторы, соль, сухой солодовый экстракт.

Образцы были подвергнуты пробоподготовке МТФД. Вначале пробу образца весом 1 г диспергировали, используя 2–3 г сорбента флоризил, далее готовили патроны (картриджи) для твердофазной экстракции. На дно патрона (картриджа) помещали 1–2 г флоризила, далее 3–4 г диспергированной пробы, соответствующей 1 г анализируемого продукта. ХОП элюировали смесью органических растворителей гексан : дихлорметан в соотношении 1 : 1 по объему, далее проводили отдувку дихлорметана. Оставшийся гексановый экстракт очищали серной кислотой и центрифугировали. После центрифугирования отбирали гексановый экстракт, концентрировали до 1 см³ и вводили в хроматограф.

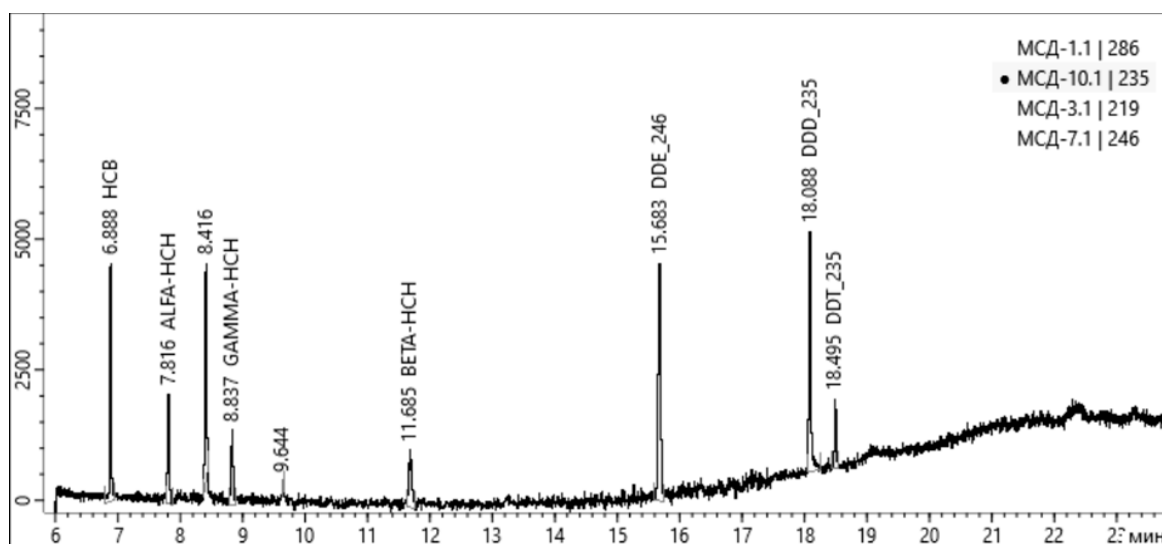
Результаты и их обсуждение. Поведение образцов составных пищевых продуктов с различным содержанием жира (до 4 % и до 30 %) при проведении пробоподготовки МТФД было различным. В частности, в диспергированных пробах образцов сырка творожного глазированного и пирожного бисквитного, покрытого шоколадом с молочной начинкой (содержание жира до 30 %), на стадии очистки серной кислотой образовывалась плотная эмульсия. После ее центрифугирования наблюдались три ярко выраженных слоя – кислота, жир, гексан. Повторная обработка кислотой после центрифугирования несущественно уменьшила жировой слой. Для улучшения раздела фаз в пробы было добавлено по 1 см³ этанола. Визуально было достигнуто полное разделение между кислотой и гексаном, жировая прослойка исчезла. Анализ экстрактов показал, что в пробе присутствуют этиловые эфиры жирных кислот в количествах, не позволяющих проводить количественное определение ХОП, то есть при добавлении этанола в экстракт в присутствии серной кислоты прошла этерификация жирных кислот, которые не были удержаны сорбентом флоризил и попали в пробу. Соответственно, экстракты данного образца в последующих исследованиях не участвовали.

Модельные образцы пирожного бисквитного, покрытого шоколадом с молочной начинкой, на стадии очистки серной кислотой также образовали плотную эмульсию. При этом после первого центрифугирования в образце пирожного бисквитного, покрытого шоколадом с молочной начинкой, разделения на фазы не наблюдалось. При повторной обработке кислотой и центрифугирования появился незначительный положительный результат, при этом слой жира был существенным. Соответственно, экстракты данного образца в последующих исследованиях не участвовали.

Был сделан вывод, что флоризил слабее удерживает неструктурированные жидкие растительные жиры (непредельные жирные кислоты), чем жиры животного происхождения (предельные жирные кислоты), твердые по консистенции и имеющие правильную структуру. То есть при содержании растительных жиров более 4 % следует искать другие подходы при проведении пробоподготовки.

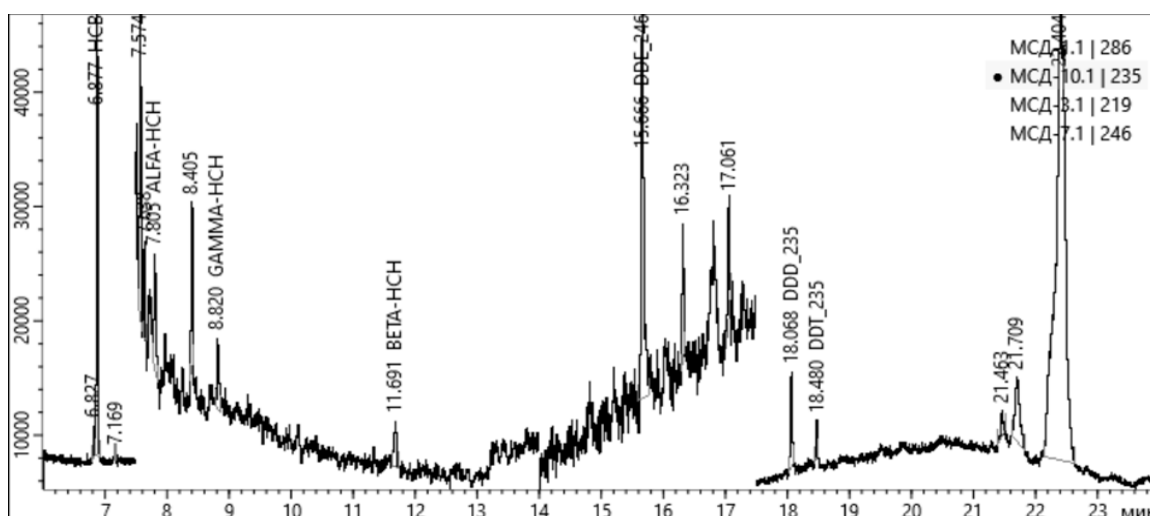
Образцы детского питания со смешанным составом демонстрировали пригодность метода МТФД-ГХ-МС как в части пробоподготовки, так и при использовании хроматографирования.

Для образцов продуктов детского питания были подготовлены модельные образцы с внесением аналитов на четырех уровнях в диапазоне линейности градуировочных характеристик и одном дополнительном, в 20 раз превышающем верхнюю границу диапазона (при этом перед хроматографированием экстракт разбавляли в 20 раз гексаном). В качестве примера на рисунке 1 приведена хроматограмма нижнего уровня абсолютной калибровки, соответствующего 0,005 мкг/см³ смеси исследуемых хлорорганических пестицидов. На рисунке 2 представлена хроматограмма экстракта модельного образца пюре из индейки с овощами для детей с возрастом 8+ месяцев с внесением на уровне 0,01 мкг/г.



По оси ординат – интенсивность пика, по оси абсцисс – время наблюдения

Рисунок 1 – Хроматограмма стандартной смеси хлорорганических пестицидов ГХБ, α-ГХЦГ, γ-ГХЦГ, β-ГХЦГ, 4,4'-ДДЭ, 4,4'-ДДД и 4,4'-ДДТ в массовой концентрации 0,005 мкг/см³ каждый, соответствующей нижнему уровню абсолютной калибровки



По оси ординат – интенсивность пика, по оси абсцисс – время наблюдения

Рисунок 2 – Хроматограмма экстракта модельного образца пюре из индейки с овощами для детей с возрастом 8+ месяцев с внесением хлорорганических пестицидов ГХБ, α-ГХЦГ, γ-ГХЦГ, β-ГХЦГ, 4,4'-ДДЭ, 4,4'-ДДД и 4,4'-ДДТ на уровне 0,01 мкг/г

Метрологические характеристики, установленные при определении ГХБ, альфа-ГХЦГ, бета-ГХЦГ, гамма-ГХЦГ, 4,4'-ДДЭ, 4,4'-ДДД и 4,4'-ДДТ в продуктах для детского питания представлены в таблице 1. Рассчитанная полнота извлечения для каждого образца находилась в диапазоне 97,2–105,3 %, среднее квадратичное отклонение повторяемости не превышало 6,1 %, то есть показатели соответствовали международным требованиям (диапазон полноты извлечения 70–120 %, среднее – для конкретного уровня внесения 110 %, среднее квадратичное отклонение не более 20 %).

Таблица 1 – Метрологические характеристики, установленные при определении ГХБ, α-ГХЦГ, β-ГХЦГ, γ-ГХЦГ, 4,4'-ДДЭ, 4,4'-ДДД и 4,4'-ДДТ в продуктах для детского питания

№	Наименование продукции	Определяемое вещество	Нижний предел количественного определения	Средняя полнота извлечения, %	Среднее квадратичное отклонение повторяемости, %
1	«ФрутоНяня» жидкая кашка йогуртная из злаков с грушей и бананом, 6+ месяцев	ГХБ	0,01	103,5	2,4
		α-ГХЦГ	0,01	100,1	5,0
		β-ГХЦГ	0,01	104,1	4,3
		γ-ГХЦГ	0,01	104,4	4,5
		4,4'-ДДТ	0,01	102,6	6,2
		4,4'-ДДД	0,01	101,9	3,3
		4,4'-ДДЭ	0,01	103,1	3,5
2	«ТЕМА» Биотворог клубника-банан 4 %, 6+ месяцев	ГХБ	0,01	100,8	5,3
		α-ГХЦГ	0,01	99,3	5,1
		β-ГХЦГ	0,01	102,6	5,2
		γ-ГХЦГ	0,01	101,2	3,8
		4,4'-ДДТ	0,01	102,5	4,9
		4,4'-ДДД	0,01	97,2	4,9
3	«ФрутоНяня» Пюре «Тропический микс + мультизлак», 8+ месяцев	ГХБ	0,005	101,0	2,7
		α-ГХЦГ	0,01	97,7	3,0
		β-ГХЦГ	0,01	100,2	3,8
		γ-ГХЦГ	0,01	99,7	3,0
		4,4'-ДДТ	0,005	104,1	3,2
		4,4'-ДДД	0,005	101,4	2,9
		4,4'-ДДЭ	0,005	104,9	3,7
4	«ФрутоНяня» Пюре из индейки с овощами, 8+ месяцев	ГХБ	0,01	100,1	4,6
		α-ГХЦГ	0,01	101,0	4,6
		β-ГХЦГ	0,01	101,0	5,1
		γ-ГХЦГ	0,01	101,9	3,7
		4,4'-ДДТ	0,01	105,3	4,7
		4,4'-ДДД	0,01	99,7	6,1
		4,4'-ДДЭ	0,01	99,0	5,1

Заключение. Полученные результаты в полной мере демонстрируют пригодность метода МТФД-ГХ-МС, описанного в МУК 4.1.3990-24 [5], для определения хлорорганических пестицидов ГХБ, изомеров ГХЦГ, 4,4'-ДДТ и его метаболитов в продукции смешанного составного содержания с ограничением по содержанию масел растительного происхождения до 4 %.

Для продукции с высоким содержанием растительных масел при определении остаточных количеств ХОП необходимо продолжить поиск и разработать другие современные подходы при пробоподготовке образцов либо использовать более чувствительное и селективное детектирующее оборудование.

Сведения о НИР. НИР «Разработка и совершенствование методов аналитического контроля ксенобиотиков в пищевой продукции, объектах среды обитания населения и биологических материалах, в том числе на основе многокомпонентного анализа», регистрационный номер 121090800058-4.

Литература

1. Gałuszka, A. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices / A. Gałuszka, Z. Migaszewski, J. Namieśnik // *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. – 2013. – Vol. 50. – P. 78–84.
2. Бехтерев, В. Н. Экспресс-определение хлорорганических пестицидов в воде методом экстракционного вымораживания в комбинации с газовой хроматографией / В. Н. Бехтерев, И. В. Мищенко, Н. С. Комаров // *Гигиена и санитария*. – 2024. – Т. 103, № 5. – С. 489–495.
3. TP TC 021/2011. Технический регламент Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции»: срок действия с 15.12.2011. – URL: <https://mart.gov.by/files/live/sites/mart/files/documents/%D0%9D%D0%9F%D0%90/%D0%A2%D0%A0%20%D0%A2%D0%A1%20021-2011.pdf> (date of access: 01.10.2024).
4. All POPs listed in the Stockholm Convention // Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs). – URL: <https://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/AllPOPs/tabid/2509/Default.aspx> (date of access: 10.09.2024).
5. Методические указания МУК 4.1.3990-24. Определение остаточных количеств хлорорганических пестицидов в отдельных видах пищевой продукции и продовольственного (пищевого) сырья животного происхождения методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием: утв. гл. гос. санитар. врачом Рос. Федерации 11.02.2024 // *Бюллетень нормативных и методических документов госсанэпиднадзора*. – Москва, 2024. – № 1. – С. 94–109.
6. Патент на пром. образец RU 139588. Схема «Алгоритм определения содержания хлорорганических пестицидов (ХОП) в пищевых продуктах и продовольственном сырье с целью оценки их безопасности»: № 2023504512 : заявлено 11.09.2023 : опубл. 11.12.2023 / Кузьмин С. В., Федорова Н. Е., Добрева Н. И., Сулова А. В. ; заявитель «Федер. науч. центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана». – URL: <https://www.fips.ru/publication-web/publications/document?type=doc&tab=PO&id=50437304-99C8-4963-B0C8-592D39ED9335> (дата обращения: 01.10.2024).
7. Evaluation of gas chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry for the determination of organochlorine pesticides in fats and oils / K. Patel, R. J. Fussell, M. Hetmanski [et al.] // *Journal of Chromatography. A*. – 2005. – Vol. 1068, № 2. – P. 289–296.

Fedorova N. E., Dobрева N. I.

SUITABILITY OF THE METHOD OF MATRIX SOLID-PHASE DISPERSION IN COMBINATION WITH GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY FOR THE DETERMINATION OF ORGANOCHLORINE PESTICIDES IN COMPOSITE FOOD, INCLUDING BABY FOOD

Federal Budgetary Establishment of Science «Federal Scientific Center of Hygiene named after F. F. Erisman» of the Federal Service for Surveillance on Consumer Protection and Human Wellbeing, Mytishchi, Russia

It is necessary to have accurate and specific analytical methods with appropriate limits of quantitative determination to ensure compliance with the regulatory requirements of the Technical Regulation of the Customs Union 021/2011 «On Food Safety» for the content of organochlorine pesticides (hereinafter – OCPs) in food products, especially for children's food.

The aim of this work is to evaluate the suitability of the matrix solid-phase dispersion method combined with gas chromatography-mass spectrometry (hereinafter – MTFD-GC-MS) for the determination of OCPs in compound food, including baby food, containing raw materials of animal and vegetable origin.

The objects of the study were 6 samples of blended products. These were 4 samples of baby food (fat content up to 4 %) and 2 samples related to milk-containing products containing up to 30 % of fat of animal and vegetable origin.

The results demonstrate the suitability of the MTFD-GC-MS method for the determination of hexachlorobenzene (hereinafter – HCB), hexachlorocyclohexane (hereinafter – HCCH) in the form of α -, β -, γ -isomers, 4,4'-dichlorodiphenyltrichloroethane (hereinafter – 4,4'-DDDT) and its metabolites 4,4'-diethyldiphenyldichloroethane (hereinafter – 4,4'-DDDD) and 4,4'-dichlorodiphenyldichloroethylene (hereinafter – 4,4'-DDE) in mixed products with a restriction on the content of vegetable oils to 4 %.

Keywords: organochlorine pesticides, compound foods containing vegetable oils; matrix solid-phase dispersion; gas chromatography-mass spectrometry.

References

1. Gałuszka A., Migaszewski Z., Namieśnik J. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. *TrAC Trends Anal Chem*. 2002; 50: 78–84.

2. Bekhterev V. N., Mishchenko I. V., Komarova N. S. Express-determination of organochlorine pesticides in water by method of extractive freezing-out in combination with gas chromatography. *Gig Sanit*, 2024; 103(5): 489–95. (in Russian)

3. TP TC 021/2011. Technical Regulations of the Customs Union «On food safety». Available at: <https://mart.gov.by/files/live/sites/mart/files/documents/%D0%9D%D0%9F%D0%90/%D0%A2%D0%A0%D0%A2%D0%A1%20021-2011.pdf> (accessed 01 October 2024). (in Russian)

4. All POPs listed in the Stockholm Convention. In: Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs). Available at: <https://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/AllPOPs/tabid/2509/Default.aspx> (accessed 10 September 2024).

5. Methodical instructions MUK 4.1.3990-24. Determination of residual amounts of organochlorine pesticides in certain types of food products and food raw materials of animal origin by gas chromatography with mass spectrometric detection. In: appr. Bulletin of regulatory and methodological documents of the state sanitary and epidemiological supervision. 2024; (1): 94–109. (in Russian)

6. Kuz'min S. V., Fedorova N. E., Dobrova N. I., Suslova A. V. *Scheme «Algorithm for determining the content of organochlorine pesticides (OCPs) in food products and food raw materials in order to assess their safety»*. Patent na prom. obrazec RU 139588. Available at: <https://www.fips.ru/publication-web/publications/document?type=doc&tab=PO&id=50437304-99C8-4963-B0C8-592D39ED9335> (accessed 01 October 2024). (in Russian)

7. Patel K., Fussell R. J., Hetmanski M. et al. Evaluation of gas chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry for the determination of organochlorine pesticides in fats and oils. *J Chromatogr. A*. 2005; 1068(2): 289–96.

e-mail: для переписки: analyt1@yandex.ru

Поступила 03.10.2024

Раздел 8

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

УДК 543.3:578.22

Казинец О. Н., Амвросьева Т. В., Поклонская Н. В., Колтунова Ю. Б., Бельская И. В.

ТЕХНОЛОГИЯ СОЗДАНИЯ НАБОРОВ ДЛЯ ИНДИКАЦИИ ВИРУСНОЙ КОНТАМИНАЦИИ ЭПИДЕМИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ

*Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии
и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь*

Аннотация. В статье представлена технология создания линейки наборов, предназначенных для проведения санитарно-вирусологического контроля качества вод разного вида пользования (питьевой, водоисточников, открытых водоемов, сточной) на предмет выявления и количественной оценки энтеро- и аденовирусов. Представлен состав наборов по типу «два в одном», который включает комплекты для отбора и концентрирования проб воды и комплект для выявления и количественной оценки содержания в них вирусного материала методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Разработанная технология является основой для налаживания и освоения производства соответствующих санитарно-вирусологических наборов для их широкого практического использования в специализированных лабораториях.

Ключевые слова: аденовирус, энтеровирус, метод сорбции/элюции, полимеразная цепная реакция, вода (питьевая, поверхностная, открытых водоемов, сточная).

Введение. Контроль контаминации водных ресурсов кишечными вирусами является важной задачей общественного здравоохранения мирового масштаба. Их контаминация данными возбудителями является нередкой причиной возникновения спорадической и вспышечной заболеваемости, регистрируемой практически во всех странах [1–3], что диктует необходимость осуществления регулярного контроля эпидемически значимых водных объектов по вирусологическим показателям с использованием в качестве мишени вирусных агентов, имеющих санитарно-показательное (индикаторное) значение.

Для этих целей в настоящее время в Республике Беларусь применяются санитарно-вирусологические наборы, при создании которых используются вируссорбирующие материалы и технологические решения, нацеленные на качественное выявление в воде энтеровирусов (далее – ЭВ). Они достаточно востребованы как в нашей стране, так и за рубежом. Исходя из накопленного опыта их применения и с учетом технологического прогресса в области санитарной вирусологии воды, сегодня назрела необходимость в создании наборов нового поколения, соответствующих текущему моменту и последним достижениям науки и практики. Одним из важных этапов при их разработке, требующих особого внимания, является выбор наиболее эффективной технологии отбора и концентрирования проб вод, имеющих, в зависимости от их происхождения, разный химический состав [4, 5]. Не менее актуальным аспектом при разработке дизайна и комплектации данных наборов представляется адекватный выбор детектируемого вируса-контаминанта с учетом его индикаторной роли при осуществлении санитарно-вирусологического анализа. Исходя из накопленных в настоящее время данных ряда зарубежных специалистов [4–6] и результатов наших собственных исследований [5–7], очевидно, что в качестве санитарно-показательных (индикаторных) вирусных агентов, кроме ЭВ, целесообразно использовать также аденовирусы (далее – АдВ) человека, которые широко распространены в природе вне зависимости от сезона и обладают высокой устойчивостью к физико-химическим факторам в водной среде. При этом необходимо использовать не только качественный, но и количественный анализ степени контаминации вод данными вирусными патогенами, что является основой последующих расчетов риска реализации водного пути распространения вирусных инфекций. Именно такой подход при разработке технологии санитарно-вирусологических исследований водных объектов, направленных на прямое количественное обнаружение индикаторных ЭВ и АдВ, позволит проводить полноцикловый анализ

качества воды от отбора/концентрирования проб до детекции в них генетического вирусного материала (РНК/ДНК) по типу «два в одном» [7–9].

Настоящая работа посвящена разработке технологии производства линейки наборов для индикации и количественной оценки вирусной контаминации вод разного вида пользования, предназначенных для их применения в специализированных лабораториях, осуществляющих санитарно-эпидемиологический надзор и производственный контроль за водными объектами.

Материалы и методы. При разработке технологии наборов для выявления и количественного анализа вирусного загрязнения воды (далее – наборы) использовали 2 способа отбора проб: погружной, предусматривающий помещение фильтрационного устройства в водную среду, и проточный, основанный на фиксации фильтрационного устройства с помещением его в ток воды. В качестве сорбента использовали волокнистый материал марки Фибан А6, элюента – 3 % бифэкстракт на трис-НСI буфере (рН = 9,6). Фильтрационное устройство, используемое для отбора проб, представляло собой пластиковый шар с прорезями или полиэтиленовый пакет с зажимом, в которые помещали сорбирующий материал.

Результаты и их обсуждение. Разработку дизайна, комплектаций наборов и их состава осуществляли с учетом объекта исследований. Созданная линейка наборов включала «Набор для отбора/концентрирования проб из питьевой воды в системе децентрализованного хозяйственно-питьевого водоснабжения и индикации энтеро-, аденовирусов методом количественной ПЦР», «Набор для отбора/концентрирования проб из питьевой воды в системе централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения и индикации энтеро-, аденовирусов методом количественной ПЦР», «Набор для отбора/концентрирования проб из воды водоисточников, открытых водоемов, шахтных колодцев и индикации энтеро-, аденовирусов методом количественной ПЦР», «Набор для отбора/концентрирования проб из сточных вод и индикации энтеро-, аденовирусов методом количественной ПЦР». Каждый набор состоял из двух комплектов: «Комплект № 1 для отбора/концентрирования вирусов» и «Комплект № 2 для индикации энтеро-, аденовирусов методом количественной ПЦР». Комплект № 1 включал реагенты для отбора и концентрирование вирусов методом сорбции/элюции. Комплект № 2 предназначен для количественного выявления индикаторных ЭВ и АдВ в сконцентрированных элюатах исследуемых проб методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Его основу составили вирусспецифические олигонуклеотиды (праймеры и гибридационные зонды), комплементарные участкам генома ЭВ, АдВ («Праймтех», Беларусь), а также термостабильная ДНК-полимераза с ревертазной активностью (АртбиоТех, Беларусь).

Количественную оценку ЭВ и АдВ проводили с помощью калибраторов, в качестве которых использовали плазмиды рJET1.2/EV и рJET1.2/AdV для определения концентрации ЭВ и АдВ соответственно (таблица 1).

Таблица 1 – Характеристика калибраторов и их разведения

Возбудитель	Плаزمида	Концентрация калибраторов, ГЭ/мл		
		10 ³	10 ⁵	10 ⁶
Аденовирус	рJET1.2/AdV	AK1	AK2	AK3
Энтеровирус	рJET1.2/EV	EK1	EK2	EK3
Примечание – ГЭ – геномный эквивалент.				

Положительный контрольный образец представлял собой смесь рекомбинантных векторов рJET1.2/AdV619-736Fb со вставкой фрагмента генома АдВ и рJET1.2/EV419-565 со вставкой фрагмента генома ЭВ в концентрации 10⁵ копий/мл для каждого. В качестве отрицательного контрольного образца (ОКО) использовали коммерческий однократный ТЕ-буфер, внутреннего контрольного образца (ВКО) – армированную РНК фага MS2 в концентрации 1,5 × 10⁶ ГЭ/мл.

Комплекты № 1 и № 2 рассчитаны на исследование 10 проб воды.

При постановке ПЦР-РВ использовали реакционную смесь и комплект праймеров, показавших оптимальные результаты для выявления РНК/ДНК ЭВ и АдВ с одновременной детекцией ВКО.

Характеристики праймеров и зондов, разработанных в экспериментальных условиях с использованием модельных вирусных агентов, отражены в таблице 2.

Таблица 2 – Праймеры и зонды для одновременной детекции РНК ЭВ, ДНК АдВ и ВКО

Название наборов праймеров	Название праймеров	Последовательность	Модификация 5'	Модификация 3'	Характеристика
EV-FAM	EVF	ATGGTGCRAAGAGTCTATTGAGCTA	-	-	Детекция ЭВ
	EVR	GAAACACGGACACCCAAAGT	-	-	
	EVpr	CTCCGGCCCTGAATGCGGCTAAT	FAM	BHQ-1	
VКО-HEX	MS2F3	GCTCGTGAAGGCGTACACTG	-	-	Детекция ВКО
	MS2R3	AACCGAACTGCAACTCCAACCA	-	-	
	MS2Z3f	CGCTCCGCTAYCTTGCCTAAACGA	HEX	BHQ-2	
AdV-ROX	AdF3	TGSYTТАATTATGAGCGGAGTAAACAC	-	-	Детекция АдВ
	AdR3	AGTAGGYGAGACAGYTATGCTTCC	-	-	
	Adpr3	AACGGTCTTCGCTTTGATATGCTGG	ROX	BHQ-2	

Накопление специфического продукта ПЦР выявляли за счет нарастания интенсивности флюоресценции после освобождения флюоресцентной метки в результате разрушения ДНК-полимеразой гибридизационного зонда, связавшегося со специфическим участком кДНК. Результат считали положительным, если кривая флюоресценции пересекала заданную пороговую линию не позднее 40 цикла амплификации (для приборов планшетного типа), не позднее 37 цикла амплификации (для приборов роторного типа). Результат считали отрицательным, если кривая флюоресценции не пересекала заданную пороговую линию или пересекала ее позднее 40 цикла амплификации – для приборов планшетного типа, позднее 37 цикла амплификации – для приборов роторного типа.

В ходе проведенных исследований разработана методика и технология количественного определения ЭВ и АдВ с помощью мультиплексной ПЦР-РВ. При ее разработке проводили оценку линейности и воспроизводимости результатов, которая осуществлялась с использованием трех последовательных разведений каждого из калибраторов (10^3 , 10^5 , 10^6 ГЭ/мл) в 3 повторах. Затем выполняли построение кривой регрессии. При этом значение коэффициента регрессии (R^2) не должно было быть ниже 0,9. Показано, что значение коэффициента регрессии для калибраторов рJET1.2/EV = 0,98, для рJET1.2/Ад = 0,99, что удовлетворяет критерию линейности. Для оценки воспроизводимости результатов анализировали 4 повтора каждого из разведений обоих калибраторов. Рассчитывали значение стандартного отклонения (s) для каждого из разведений. Полученный показатель не должен был превышать значение в 5 % (95% достоверность). Стандартное отклонение для всех разведений калибратора рJET1.2/EV составляло от 0,3 % до 1,9 %, что соответствует критерию воспроизводимости (таблица 3).

Таблица 3 – Расчет стандартного отклонения для повторов калибраторов рJET1.2/EV

Концентрация калибратора, ГЭ/мл	Среднее значение Ct	Стандартное отклонение Ct	Стандартное отклонение (%)
10^3	34,84	0,69	1,09
10^5	29,56	0,09	0,30
10^6	27,57	0,26	0,90

Стандартное отклонение для всех разведений калибратора рJET1.2-А принимало значения от 0,09 % до 1,09 %, что также удовлетворяет заявленному критерию воспроизводимости результатов (таблица 4).

Таблица 4 – Расчет стандартного отклонения для повторов калибраторов рJET1.2/А

Концентрация калибратора, ГЭ/мл	Среднее значение Ct	Стандартное отклонение Ct	Стандартное отклонение (%)
10^3	33,94	0,37	1,09
10^5	25,80	0,28	1,09
10^6	22,66	0,02	0,09

Чувствительность созданной технологии составила 10^3 ГЭ/мл, специфичность – 100 %.

Вышеописанная технология, включающая этапы отбора/концентрирования проб и выявления индикаторных вирусов методом количественной ПЦР-РВ, далее была использована для разработки научно-технической документации (лабораторный регламент и технические условия) на производство соответствующих санитарно-вирусологических наборов.

Заключение. Разработанная технология полноциклового санитарно-вирусологического анализа вод разного вида пользования, направленная на прямое количественное обнаружение АдВ и ЭВ, легла в основу создания линейки наборов для выявления их вирусной контаминации (открытых водоемов, водоисточников, питьевой в системе централизованного и нецентрализованного водоснабжения, сточной). Использование данных наборов позволит обеспечить выполнение всех этапов санитарно-вирусологического анализа, начиная от отбора проб и заканчивая количественной ПЦР-РВ. Их потребителями будут специализированные лаборатории, осуществляющие санитарно-гигиенический надзор за эпидемически значимыми водными объектами, а также их производственный контроль. Зарубежные аналоги наборов в доступных источниках информации не выявлены, что указывает на экспортный потенциал созданного новшества.

Использование наборов в практических лабораториях позволит стандартизовать и повысить качество, технологичность и скорость осуществляемых санитарно-вирусологических исследований, что будет достигнуто за счет их комплектации по типу «два в одном», а также высокой специфичности и чувствительности применяемых аналитических методов.

Литература

1. Sinclair, R. G. Viruses in recreational water-borne disease outbreaks: a review / R. G. Sinclair, E. L. Jones, C. P. Gerba // *Journal of Applied Microbiology*. – 2009. – Vol. 107, № 6. – P. 1769–1780.

2. Measuring sporadic gastrointestinal illness associated with drinking water – an overview of methodologies / J. Bylund, J. Toljander, M. Lysén [et al.] // *Journal of Water and Health*. – 2017. – Vol. 15, № 3. – P. 321–340.

3. Cashdollar, J. L. Methods for primary concentration of viruses from water samples: a review and meta-analysis of recent studies / J. L. Cashdollar, L. Wymer // *Journal of Applied Microbiology*. – 2013. – Vol. 115, № 1. – P. 1–11. – DOI: 10.1111/jam.12143.

4. Ikner, L. A. Concentration and recovery of viruses from water: a comprehensive review / L. A. Ikner, C. P. Gerba, K. R. Bright // *Food and Environmental Virology*. – 2012. – Vol. 4, № 2. – P. 41–67.

5. Quantitative detection of human adenoviruses in wastewater and combined sewer overflows influencing a Michigan river / T. T. Fong, M. S. Phanikumar, I. Xagorarakis, J. B. Rose // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2010. – Vol. 76, № 3. – P. 715–723.

6. Mena, K. D. Waterborne adenovirus / K. D. Mena, C. P. Gerba // *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. – 2009. – Vol. 198. – P. 133–167.

7. Possible indicator role of adenoviruses for assessing viral contamination of water / T. V. Amvrosieva [et al.] // *Water for all – Water for nature, reliable water supply, wastewater treatment and reuse : 11th East. Eur. young water profess. conf., Praha, 1–5 Oct. 2019* / ed.: M. Feierabend, J. Wanner, P. Vachová. – Praha, 2019. – P. 123–128.

8. Real-time PCR detection of enteric viruses in source water and treated drinking water in Wuhan, China / X. Y. Ye, X. Ming, Y. L. Zhang [et al.] // *Current Microbiology*. – 2012. – Vol. 65, № 3. – P. 244–253.

9. Botes, M. Application of quantitative PCR for the detection of microorganisms in water / M. Botes, M. de Kwaadsteniet, T. E. Cloete // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. – 2013. – Vol. 405, № 1. – P. 91–108.

Kazinets O. N., Amvrosieva T. V., Paklonskaya N. V., Kaltunova Yu. B., Belskaya I. V.

TECHNOLOGY FOR CREATING KITS FOR INDICATING VIRAL CONTAMINATION OF EPIDEMICALLY SIGNIFICANT WATER FACILITIES

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

The article presents the technology for creating a line of kits intended for sanitary and virological monitoring of the quality of various types of waters (drinking, water sources, open reservoirs, wastewater) for the purpose of identifying and quantifying entero- and adenoviruses. The kits have a two-in-one format, which includes a kit for collecting and concentrating water samples and a kit for identifying and quantifying the content of viral material in them with using real-time polymerase chain reaction. The developed

technology is the basis for preparing and mastering the production of appropriate sanitary-virological kits for their widespread practical use in specialized laboratories.

Keywords: adenovirus, enterovirus, sorption-elution method, polymerase chain reaction, water (drinking, surface, open reservoirs, waste).

References

1. Sinclair R. G., Jones E. L., Gerba C. P. Viruses in recreational water-borne disease outbreaks: a review. *J Appl Microbiol.* 2009; 107(6): 1769–80.
2. Bylund J., Toljander J., Lysén M. et al. Measuring sporadic gastrointestinal illness associated with drinking water – an overview of methodologies. *J Water Health.* 2017; 15(3): 321–40.
3. Cashdollar J. L., Wymer L. Methods for primary concentration of viruses from water samples: a review and meta-analysis of recent studies. *J Appl Microbiol.* 2013; 115(1): 1–11. DOI: 10.1111/jam.12143.
4. Ikner L. A., Gerba C. P., Bright K. R. Concentration and recovery of viruses from water: a comprehensive review. *Food Environ Virol.* 2012; 4(2): 41–67.
5. Fong T. T., Phanikumar M. S., Xagorarakis I., Rose J. B. Quantitative detection of human adenoviruses in wastewater and combined sewer overflows influencing a Michigan river. *Appl Environ Microbiol.* 2010; 76(3): 715–23.
6. Mena K. D., Gerba C. P. Waterborne adenovirus. *Rev Environ Contam Toxicol.* 2009; 198: 133–67.
7. Amvrosieva T. V., Paklonskaya N. V., Belskaya I. V. et al. Possible indicator role of adenoviruses for assessing viral contamination of water. In: Feierabend M., Wanner J., Vachová P., eds. *Water for all – Water for nature, reliable water supply, wastewater treatment and reuse: 11th East. Eur. young water profess. conf., Praha, 1–5 Oct. 2019.* Praha; 2019: 123–8.
8. Ye X. Y., Ming X., Zhang Y. L. et al. Real-time PCR detection of enteric viruses in source water and treated drinking water in Wuhan, China. *Curr Microbiol.* 2012; 65(3): 244–53.
9. Botes M., de Kwaalsteniet M., Cloete T. E. Application of quantitative PCR for the detection of microorganisms in water. *Anal Bioanal Chem.* 2013; 405(1): 91–108.

e-mail для переписки: amvrosieva@gmail.com

Поступила 24.10.2024

УДК 614.484:661.16.034.6

Карамышева Ю. С., Гудков В. Г.

ЛАБОРАТОРНАЯ ОЦЕНКА ОВОЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИХ СРЕДСТВ

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии
и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Возросшие требования к эффективности дезинфицирующих средств (далее – ДС) нередко предполагают наличие у них универсальной дезинфицирующей активности к различным типам микроорганизмов, включая бактерии, грибы, вирусы, споры, а также яйца гельминтов и цисты простейших. Работа посвящена изучению овоцидной активности ДС.

В суспензионном тесте определена овоцидная активность в отношении яиц *Ascaris lumbricoides* 15 ДС, содержащих активно действующие вещества (далее – АДВ) различных химических классов. Использовались режимы дезинфекции, предусмотренные инструкциями по применению ДС в отношении вирусов, бактерий, грибов. Исследование показало, что испытанные дезинфицирующие средства обладают разной степенью овоцидной активности в диапазоне от 1 % до 82 %, не достигая максимального значения 100 %.

Ключевые слова: овоцидная активность, методы, средства дезинфекции, активно действующие вещества.

Введение. Важным элементом комплекса мероприятий по борьбе с гельминтозами является дегельминтизация объектов внешней среды, направленная на прерывание путей распространения возбудителей для профилактики инвазированности населения и домашних животных. При этом следует

отметить, что яйца гельминтов, в частности аскарид (*Ascaris lumbricoides*), в силу своей структуры и биологических свойств при благоприятных условиях внешней среды могут сохранять жизнеспособность в течение 7–10 лет. Они устойчивы к ДС, выдерживая, например, воздействие хлора в концентрации 500 мг/л воды в течение длительного времени [1].

Для уничтожения яиц гельминтов использовался ряд химических веществ, включая серную, соляную, азотную, карболовую кислоты, креолин, хлорную известь, дихлорэтан, крезол и др. Однако их применение небезопасно для людей, животных и окружающей среды, а в допустимых концентрациях они недостаточно эффективны [2].

Разработка ДС, эффективных и в отношении возбудителей паразитарных инвазий, остается актуальным направлением в профилактике паразитарных заболеваний. В то же время овоцидная эффективность ДС мало изучена, а методическая база таких исследований недостаточно разработана, что обусловило относительно редкую характеристику овоцидной активности у распространенных ДС.

Цель работы – изучение овоцидной активности 15 дезинфицирующих средств, содержащих 6 основных классов АДВ.

Материалы и методы. Определение овоцидной активности ДС проводилось в суспензионном тесте путем смешивания в стеклянных градуированных центрифужных пробирках в соотношении 1 : 1 суспензии тест-объекта патогенного биологического агента (далее – ПБА) с раствором дезинфектанта в конечной рабочей концентрации и последующей экспозиции смеси в соответствии с инструкциями по применению использованных ДС в отношении указанных в этих инструкциях типов микроорганизмов.

В качестве тест-объекта ПБА использовались яйца гельминтов *Ascaris lumbricoides*, полученные в лабораторных условиях при препарировании самки аскариды. Незрелые оплодотворенные яйца помещались в 3%-й раствор формалина в изотоническом растворе натрия хлорида при температуре 24–30 °С во влажной камере (чашках Петри). Чашки Петри открывались 1-2 раза в неделю для лучшей аэрации, фильтровальная бумага регулярно увлажнялась чистой водой. Количество яиц подсчитывалось в камере Фукса – Розенталя согласно инструкции по использованию камеры. Для постановки одного варианта эксперимента использовалось от 100 до 200 яиц гельминта.

Исследованные ДС, согласно техническим нормативным правовым актам (далее – ТНПА), предназначены для применения в медицинских организациях любого профиля, в том числе реанимационных, дошкольных и школьных учреждениях, на предприятиях общественного питания и торговли, на объектах коммунально-бытового обслуживания для дезинфекции поверхностей, оборудования, пропитки резиновых, пластиковых и полипропиленовых ковриков, систем вентиляции и кондиционирования воздуха, некоторые из них – для гигиенической обработки рук. Они обладали бактерицидной, туберкулоцидной, фунгицидной, спороцидной и вирулицидной активностью. Исследование на овоцидную активность проводилось впервые.

В состав ДС в качестве АДВ входили спирты, производные гуанидинов, алкиламины, фенольные соединения, хлорактивные соединения, четвертичные аммониевые соединения (далее – ЧАС) и их композиции.

Оценка овоцидной эффективности ДС осуществлялась методом световой микроскопии (объектив × 8 или × 10, окуляр × 7 или × 10, для детального изучения морфологической структуры – объектив × 40) путем определения морфологических признаков жизнеспособности яиц гельминтов до и после экспозиции с ДС. Изучалась морфологическая структура неокрашенных и окрашенных метиленовым синим в растворе молочной кислоты с едкой щелочью микропрепаратов.

Овоцидная эффективность ДС рассчитывалась по формуле (1):

$$ОЭ = 100 - \frac{a1 \times c1}{a2 \times c2} \times 100 - \frac{(P1-P2)}{n}, \quad (1)$$

где ОЭ – овоцидная эффективность ДС, %;

a1 – количество живых яиц гельминтов простейших в опыте;

a2 – количество живых яиц гельминтов простейших в контроле;

c1 – количество живых яиц гельминтов, взятых для определения их жизнеспособности, в опыте;

c2 – количество живых яиц гельминтов, взятых для определения их жизнеспособности, в контроле;

P1 – процент погибших яиц гельминтов в опыте;

P2 – процент живых яиц гельминтов в опыте;

n – количество яиц гельминтов, взятых для определения их жизнеспособности, в опыте [3].

Статистическая обработка данных исследования осуществлялась при помощи пакета Microsoft Excel.

Результаты и их обсуждение. При определении овоцидной активности учитывалось количественное соотношение и морфология тест-объекта яиц гельминтов *Ascaris lumbricoides* в параллельных пробах до смешивания с исследуемым ДС (контрольные пробы) и после экспозиции с ним (опытные пробы).

Результаты исследования 15 ДС с различными АДВ представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Овоцидная активность ДС с различными АДВ

№ ДС	Наименование и концентрация АДВ в исходном ДС	Концентрация АДВ в рабочем растворе ДС, %	Экспозиция, мин	Овоцидная эффективность, %
1	Спирт этиловый, 70 % ЧАС, 0,1 %	70 0,1	5	13,5 ± 1,2
2	Спирт изопропиловый, 70 % ЧАС, 0,4 %	70 0,4	5	11,9 ± 0,7
3	Производные гуанидинов, 0,5 %	0,5	1	10,7 ± 1,3
4	Производные гуанидинов, 3,6–4,1 %	0,018–0,020	60	67,8 ± 3,8
		0,036–0,041	30	74,6 ± 3,6
		0,036–0,041	60	82,4 ± 3,7
5	Производные гуанидинов, 1,6 % Пероксид, 7,9 %	0,032 0,158	60	76,3 ± 1,6
	Производные гуанидинов, 1,6 % Пероксид, 7,9 %	0,048 0,237	40	68,1 ± 1,9
6	Алкиламины, 0,4 %	0,4	1	9,0 ± 0,4
7	Алкиламины, 2,5 % ЧАС, 1,0 %	0,025 0,01	30	56,6 ± 3,1
	Алкиламины, 2,5 % ЧАС, 1,0 %	0,0125 0,005	60	51,0 ± 2,2
8	Алкиламины, 0,7 % Производные гуанидинов, 0,7 % ЧАС, 2,8 %	0,0056 0,0056 0,8	15	11,8 ± 1,7
	Алкиламины, 0,7 % Производные гуанидинов, 0,7 % ЧАС, 2,8 %	0,021 0,021 0,084	60	37,05 ± 1,2
9	ЧАС, 0,5 %	0,5	1	17,8 ± 0,8
10	ЧАС, 2,0 %	2,0	1	18,5 ± 1,9
		0,02	30	25,6 ± 2,3
		0,02	60	32,6 ± 1,6
11	ЧАС, 20 %	0,16	5	17,1 ± 2,3
		0,6	60	33,4 ± 1,1
12	ЧАС, 2,5 % Альдегиды, 2,5 %	0,05 0,05	60	81,6 ± 2,4
	ЧАС, 2,5 % Альдегиды, 2,5 %	0,075 0,075	40	81,1 ± 3,2
13	ЧАС, 5,0 % Гликолевая кислота, 17,0 %	0,1 0,34	60	68,4 ± 1,9
	ЧАС, 5,0 % Гликолевая кислота, 17,0 %	0,15 0,51	40	60,5 ± 2,1
14	Фенольные соединения, 0,2–0,3 %	0,2–0,3	1	1,2 ± 0,2
		0,002–0,003	30	3,1 ± 0,1
		0,002–0,003	60	9,2 ± 0,4
15	Хлорактивные соединения, 55 %	0,33	50	54,2 ± 3,0
		0,165	100	50,9 ± 3,4
		0,495	100	55,1 ± 0,9

Как видно из приведенных в таблице 1 данных все испытанные ДС обладают определенной овоцидной активностью, однако степень этой активности существенно различается и находится в диапазоне от $(1,0 \pm 0,2)$ % до $(82,4 \pm 3,7)$ %, не достигая при этом максимального значения 100 %.

Исследование показало наличие незначительной дезинвазионной активности у ДС № 14, содержащего в качестве АДВ фенольные соединения. При различных режимах применения овоцидная эффективность этого ДС составляла от $(1,2 \pm 0,2)$ % до $(9,2 \pm 0,4)$ %. Вместе с тем известно, что некоторые производные фенола проявляют выраженную антимикробную активность, эффективно уничтожая микобактерии туберкулеза, грибки, вирусы. Исключение составляет триклозан, который активен лишь в отношении бактерий. Инактивация гидрофильных вирусов возможна лишь при высокой концентрации дезсредства и продолжительной экспозиции и мало используется сегодня из-за повышенной токсичности [4]. Овоцидная активность ДС с этим АДВ не превышает 10,0 %, и использование этого ДС в отношении гельминтов, по-видимому, нецелесообразно.

Спирты могут комбинироваться практически со всеми АДВ, как правило, ДС на основе спиртов, выпускаются в виде готовых к применению растворов, которые используются в качестве кожных антисептиков. Спиртосодержащие ДС применяют также для обеззараживания небольших по площади поверхностей способами орошения или протирания [4]. Однако они также проявляют низкую овоцидную эффективность, которая составляет около 15,0 % (ДС № 1 и 2).

Хлорактивные соединения традиционно используются в качестве АДВ, они проявляют высокую эффективность и широкий спектр антимикробной активности в отношении всех видов бактерий (в том числе образующих споры), а также вирусов и грибов. Бактерицидную активность большинство соединений этой группы проявляют уже при концентрациях 0,02–0,08 % по активному хлору и экспозиции 15 минут, спороцидную 2–5 % по активному хлору и времени воздействия 3–6 часов [4].

В настоящем исследовании установлено, что в отношении яиц гельминтов ДС № 15 с этим АДВ имеет средний уровень эффективности, который при использовании в различных режимах не превышает 56,0 %.

ДС, содержащие третичный амин или диамин, имеют высокую бактерицидную, фунгицидную и вирулицидную активность, слабую, туберкулоцидную и не обладают спороцидным действием [4]. Овоцидная активность ДС с этим классом АДВ в различных композициях составляет не более 60 % (ДС № 6–8).

ЧАС не проявляют туберкулоцидной и спороцидной активности, инактивируют липофильные вирусы, но избирательно и в высоких концентрациях – гидрофильные вирусы. ДС № 9–11 на основе ЧАС проявляют невысокую эффективность в отношении яиц гельминтов, которая не превышает 35,0 %. Для повышения активности ЧАС в композиционных средствах их используют в сочетании с другими АДВ [5].

Так, комбинация ЧАС с гликолевой кислотой обеспечивает овоцидную эффективность ДС № 13 до $(68,4 \pm 1,9)$ %, а с альдегидами – до $(81,6 \pm 2,4)$ % (ДС № 12).

В федеральных клинических рекомендациях по выбору химических средств дезинфекции и стерилизации для использования в медицинских организациях отмечается хорошая бактерицидная и вирулицидная активность производных гуанидинов в отношении оболочечных (липофильных) и безоболочечных (гидрофильных) вирусов [4]. Результаты наших исследований позволяют считать, что использование производных гуанидинов является перспективным направлением и в разработке ДС, обладающих выраженной овоцидной активностью. Так, все три испытанных ДС (№ 3, 4 и 5), содержащих в качестве АДВ производные гуанидинов, обладали овоцидной активностью, которая находится в прямой зависимости от концентрации АДВ и времени экспозиции с ПБА. При этом у ДС № 4 был отмечен наибольший из всех испытанных ДС показатель овоцидной эффективности, который составил $(82,4 \pm 3,7)$ %.

Заключение. Проведено изучение овоцидной активности в отношении яиц *Ascaris lumbricoides* 15 ДС, содержащих АДВ различных химических классов и их комбинации. Использовались режимы дезинфекции, предусмотренные инструкциями по применению этих ДС. Исследование показало, что испытанные дезинфицирующие средства обладают разной степенью овоцидной активности в диапазоне от $(1,0 \pm 0,2)$ % до $(82,4 \pm 3,7)$ %, не достигая при этом максимального значения 100 %. Наибольшая овоцидная эффективность $(82,4 \pm 3,7)$ % была выявлена у ДС № 4, АДВ которого являлись производные гуанидинов, схожий показатель эффективности $(81,6 \pm 2,4)$ % выявлен у ДС № 12, содержащего в качестве АДВ комбинацию ЧАС с альдегидами. По-видимому, именно эти 2 ДС предпочтительно использовать в качестве ДС с выраженной овоцидной активностью.

Результаты исследования свидетельствуют также, что, несмотря на наличие большого перечня ДС, эффективных в отношении традиционных типов ПБА, существует дефицит ДС, пригодных для эффективного обеззараживания объектов окружающей среды, контаминированных паразитарными

патогенами. Так, только 2 из 15 испытанных ДС (13,33 %) обладали выраженной овоцидной активностью. Это обуславливает необходимость разработки высокоэффективных дезинфицирующих композиций в отношении всех типов ПБА, отвечающих критериям эпидемиологической и гигиенической безопасности, а также соответствующих методов исследования и рекомендаций по выбору химических средств дезинфекции при проведении дезинвазионных мероприятий.

Сведения о НИР. НИР «Разработать диагностический набор для выявления возбудителей протозоозов методом полимеразной цепной реакции и метод определения протозооцидной активности дезинфектантов и антисептиков для повышения эффективности санитарно-противоэпидемических и профилактических мероприятий» подпрограммы «Инфекции и биологическая безопасность» государственной научно-технической программы «Новые методы оказания медицинской помощи», регистрационный номер 20163666.

Литература

1. Паразитология человека / под ред. Г. С. Первомайский, В. Я. Подолян. – Л. : Медицина, 1974. – 575 с.
2. Долбин, Д. А. Устойчивость яиц гельминтов к неблагоприятным физическим, химическим и биологическим факторам окружающей среды (обзор литературы) / Д. А. Долбин, Р. З. Хайруллин // Российский паразитологический журнал. – 2017. – № 1. – С. 14–19.
3. Методы санитарно-паразитологических исследований : метод. указания МУК 4.2.2661-10 / Н. А. Романенко, В. П. Сергиев, А. И. Чернышенко [и др.]. – М. : Федер. центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011. – 63 с.
4. Федеральные клинические рекомендации по выбору химических средств дезинфекции и стерилизации для использования в медицинских организациях // КонсультантПлюс. Россия : справ. правовая система (дата обращения: 26.09.2024).
5. Актуальные проблемы оценки качества дезинфекционных мероприятий при паразитозах на территории Российской Федерации / М. М. Асланова, Т. В. Гололобова, К. Ю. Кузнецова [и др.] // Гигиена и санитария. – 2020. – Т. 99, № 3. – С. 274–278.

Karamyshava Y. S., Gudkov V. G.

LABORATORY ASSESSMENT OF OVOCIDAL ACTIVITY OF DISINFECTANTS

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

Increased requirements for the effectiveness of disinfectants often imply their universal disinfectant activity against various types of microorganisms, including bacteria, fungi, viruses, spores, and besides that, against helminth eggs and protozoan cysts. The work is devoted to the study of the ovocidal activity of disinfectants.

The suspension test determined the ovocidal activity against *Ascaris lumbricoides* eggs of 15 disinfectants containing active substances of various chemical classes. Disinfection modes provided for in the instructions for the use of disinfectants against viruses, bacteria, and fungi were used. The study showed that the tested disinfectants have varying degrees of ovocidal activity in the range from 1 % to 82 %, without reaching the maximum value of 100 %.

Keywords: ovocidal activity, methods, disinfectants, active substances.

References

1. Pervomajskij G. S., Podolyan V. Ya., eds. Human parasitology. Leningrad: Medicina; 1974. (in Russian)
2. Dolbin D. A., Hajrullin R. Z. Resistance of helminth eggs to unfavorable physical, chemical and biological factors of the environment (literature review). *Rus J Parasitol.* 2017; 1: 14–9. (in Russian)
3. Romanenko N. A., Sergiev V. P., Chernyshenko A. I. et al. Methods of sanitary and parasitological research: Metod. ukazaniya MUK 4.2.2661-10. Moscow: Feder. centr gigeny i epidemiologii Rospotrebnadzora; 2011. (in Russian)
4. Federal clinical recommendations for the selection of chemical disinfectants and sterilization agents for use in medical organizations. ConsultantPlus. Russia: sprav. pravovaya sistema (accessed 20 September 2024).
5. Aslanova M. M., Gololobova T. V., Kuznetsova K. Yu. et al. Actual problems of assessing the quality of disinfection measures for parasitosis in the Russian Federation. *Gig Sanit.* 2020; 99(3): 274–8. (in Russian)

e-mail для переписки: juliakaramyshava@mail.ru

Поступила 26.09.2024

Пархомчук О. Ю., Фомина Е. Г., Новикова Т. П.¹, Доценко Э. А.¹

ПОЛИМОРФНЫЕ ВАРИАНТЫ ГЕНА HLA-DQB1: ГЕНОТИПИРОВАНИЕ И РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ В ИССЛЕДУЕМОЙ ГРУППЕ

*Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии
и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь
¹Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь*

Аннотация. Главный комплекс генов гистосовместимости человека – HLA-комплекс – является одним из самых сложных и полиморфных участков в геноме человека. Особенности распределения генов этой системы и их продукты выполняют важную роль в развитии различных заболеваний, в том числе аллергических. В многочисленных популяциях можно наблюдать не только многообразное распределение аллелей генов системы HLA, но и неоднозначные выводы относительно их ассоциации с многочисленными патологиями. В данной статье представлена информация о методологии, примененной при генотипировании аллельных вариантов гена HLA-DQB1 (HLA-DQB1*03:01, *04, *05) и результатах распространенности этих вариантов гена в группе лиц, проживающих на территории Республики Беларусь. Показано, что в 57,4 % случаев выявлялась аллель HLA-DQB1*03:01. Группы аллелей HLA-DQB1*04 и HLA-DQB1*05 встречались с более низкой частотой (6,4 % и 40,4 % случаев соответственно). Результаты распределения исследуемых групп аллелей согласуются с аналогичными данными, полученными в ходе исследований, проведенных в Европейском регионе.

Ключевые слова: человеческие лейкоцитарные антигены, главный комплекс гистосовместимости, полиморфизм.

Введение. Человеческие лейкоцитарные антигены (HLA, human leukocyte antigens), или система тканевой совместимости человека, представляют собой группу генов и кодируемых ими антигенов клеточной поверхности, которые играют ключевую роль в распознавании чужеродных белков и развитии иммунного ответа. Гены системы HLA, которых насчитывается более 200, располагаются на коротком плече 6-й хромосомы. Сложно установить точные границы для этой генетической области, так как работа по определению генов внутри и вокруг главного комплекса гистосовместимости продолжается и сейчас. В настоящее время этот регион охватывает около 4 млн пар оснований.

Основная задача системы HLA – это регуляция иммунного ответа, посредством генного контроля взаимодействия иммунокомпетентных клеток организма. Сила иммунного ответа конкретного человека во многом определяется индивидуальным набором молекул HLA и их свойствами [1].

Гены системы HLA представлены тремя классами (I, II, III), соответственно сгруппированы и антигены (молекулы), кодируемые этими генами. Биологическая роль генов HLA классов I и II состоит в презентации антигенных пептидов Т-лимфоцитам. Антигены класса I экспрессируются практически всеми клетками, содержащими ядра, и представляют чужеродные эндогенные пептиды для распознавания CD8⁺ Т-лимфоцитам. Ближе к центромере находятся гены, кодирующие молекулы HLA класса II, которые экспрессируются на цитоплазматической мембране антигенпрезентирующих клеток. Для связывания экзогенного чужеродного агента CD4⁺ Т-лимфоцитами антиген должен находиться в комплексе с белком, кодируемым геном именно этого класса. Между генами HLA классов I и II расположены гены класса III, продукты которых не связаны с презентацией антигенов.

Выделяют три семейства генов класса II – DR, DQ, DP. Лocus HLA-DQ представляет собой димер, состоящий из двух белковых субъединиц α и β , кодируемых генами HLA-DQA1 и HLA-DQB1 соответственно. Как альфа-, так и бета-цепь характеризуются значительной полиморфностью, определяющей специфичность связывания пептида. Типирование таких вариабельных участков обычно проводится при трансплантации костного мозга [1, 2].

Известно, что для генов системы HLA характерно выраженное популяционное генетическое разнообразие. Из всех генов человека, участвующих в адаптивном иммунном ответе и подверженных естественному отбору, гены главного комплекса гистосовместимости показывают особенно высокий уровень полиморфизма в различных этнических группах [3]. Установлена тесная взаимосвязь между наличием определенных полиморфных аллелей, в том числе и аллелей гена HLA-DQB1, и риском возникновения и развития различных заболеваний. Так, результаты исследования, проведенного

в Китае, показали достоверную ассоциацию плоскоклеточной карциномы пищевода с наличием аллеля HLA-DQB1*03:01 [4]. Известно также, что полиморфные варианты гена HLA-DQB1 в различных популяциях достоверно взаимосвязаны с развитием ряда таких аутоиммунных заболеваний, как целиакия, диабет 1 типа, миастения и ревматоидный артрит [5–8]. Выявлена значимая ассоциация между аллелями гена HLA-DQB1 и формированием аллергических заболеваний. В исследовании, проведенном в Канаде, например, группа аллелей HLA-DQB1*02 и аллель HLA-DQB1*06:03 достоверно связаны с аллергией на арахис [9]. В пакистанской популяции фактором риска развития астмы, возникающей, как известно, в результате сочетания множества факторов, в том числе и аллергенов, является наличие аллеля DQB1*03:03:02 [10]. Значимая ассоциация установлена между аллелем HLA-DQB1*06:01:01 и аллергическим ринитом, вызванным аллергенами клещей домашней пыли, среди китайцев [11]. Варибельные участки гена HLA-DQB1, по данным литературы, в популяции русских имеют прогностическое значение в формировании поллиноза. В результате этого исследования выявлен маркер резистентности к развитию этого заболевания – аллель HLA-DQB1*03:01, а двулокусные гаплотипы HLA-DRB1*08/DQB1*05, HLA-DRB1*17/DQB1*04:01/02 определены как показатели риска формирования пыльцевой аллергии [12].

Представляет интерес распространенность полиморфных вариантов гена HLA-DQB1 среди жителей Республики Беларусь для дальнейшего изучения их влияния на формирование поллиноза.

Цель работы – отработка методологии генотипирования аллелей гена HLA-DQB1 (HLA-DQB1*03:01, *04, *05) и проведение предварительного анализа частоты встречаемости этих аллелей в группе лиц, проживающих на территории Республики Беларусь.

Материалы и методы. Материалом для исследования являлись образцы цельной крови добровольцев (n = 47), обратившихся за консультацией к врачу-аллергологу в УЗ «6-я городская клиническая больница» и проживающих на территории нашей страны. Забор биологического материала проводили с информированного согласия респондентов в УЗ «6-я городская клиническая больница». Возраст исследуемых составил 18–55 лет. Все участники исследования относятся к условно-здоровым лицам, без аллергопатологии.

Экстракцию ДНК осуществляли методом преципитации с использованием наборов реагентов «НК-экстра» (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Республика Беларусь) и «Рибо-преп» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Российская Федерация) согласно инструкциям производителей.

Для амплификации полиморфных областей исследуемых генов применен метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с использованием специфических праймеров и зондов, синтезированных ОДО «Праймтех».

Для аллеля HLA-DQB1*03:01:

(F) 5'-GACGGAGCGCGTGCGTTA-3';

(R) 5'-GGCTGTTCCAGTACTCGGCGT-3';

(probe) 5'-CCGAGAGGAGTACGCACGCTTCGAC-3'.

Для группы аллелей HLA-DQB1*04:

(F) 5'-TACTTCACCAACGGGACC-3';

(R) 5'-CCAGTACTCGGCGTCAA-3';

(probe) 5'-AGAGGAGTACGCGCGCTTCGACAG-3'.

Для группы аллелей HLA-DQB1*05:

(F) 5'-TGCGGGGTGTGACCAGAC-3';

(R) 5'-CTGTTCCAGTACTCGGC-3';

(probe) 5'-AACCGAGAGGAGTACGTGCGCTTCGA-3' [13].

Постановка ПЦР осуществлялась на приборе QuantStudio 5 (Thermo Scientific, США). Состав реакционной смеси: 2,5 мкл 10xTaq-буфера (Thermo Scientific, США); 2,5 мкл 25 мМ MgCl₂ (конечная концентрация – 2,5 мМ); 0,5 мкл дНТФ (10 мМ каждого); по 15 пМ соответствующих праймеров и 10 пМ зонда; 1 ед. Taq-полимеразы (Thermo Scientific, США); 100 нг ДНК; деионизованная вода до конечного объема 25 мкл.

Программа амплификации фрагментов генов системы HLA включала следующие этапы: первоначальная денатурация при 95 °С в течение 3 мин; 45 циклов, включающих: денатурацию при 95 °С в течение 15 сек; отжиг праймеров при 55 °С в течение 20 сек; элонгацию цепи при 72 °С в течение 20 сек. Зонды, используемые в реакции, мечены флуоресцентными красителями, детектируемыми на канале FAM.

Продукты амплификации анализировали электрофоретическим методом в 2,0 % агарозном геле. Электрофорез проводили в трис-боратном буфере, pH 8,0, в течение 45 мин. Сравнительную оценку

размеров фрагментов ДНК и их относительной концентрации проводили визуально по отношению к маркеру молекулярных масс нуклеиновых кислот (O'RangeRuler 100 bp Ladder, Thermo Scientific, США).

Результаты и их обсуждение. Для HLA-типирования в настоящее время применяются различные методы. Традиционный молекулярный метод, такой как PCR-SSO (polymerase chain reaction sequence-specific oligonucleotide), требует начальной стадии амплификации ПЦР с последующей гибридизацией с использованием меченых специфических зондов и дальнейшего инструментального учета. В основе метода PCR-SSP (polymerase chain reaction with sequence specific priming) лежит ПЦР с аллель-специфическими праймерами, а при использовании PCR-SBT (polymerase chain reaction-sequencing-based typing) применяется секвенирование. У каждого из этих методов есть свои преимущества и область применения, но основным недостатком является трудоемкость и значительные временные и финансовые затраты. Кроме того, для всех способов характерна дополнительная обработка после ПЦР, что может привести к перекрестному загрязнению образцов и реагентов [14–16]. В то же время использование подхода с использованием ПЦР с детекцией продуктов в режиме реального времени (Real-time PCR, ПЦР-РВ) в сочетании со специфичными для последовательности праймерами и зондами для быстрого субтипирования требует минимального практического времени и относительно небольших материальных затрат по сравнению с существующими альтернативными подходами типирования генов системы HLA. Важным аспектом является отсутствие электрофоретического анализа проб после ПЦР, что позволяет избежать риска контаминации [13, 17].

В связи с вышеизложенными преимуществами было принято решение для генотипирования полиморфных вариантов гена HLA-DQB1 использовать метод ПЦР-РВ.

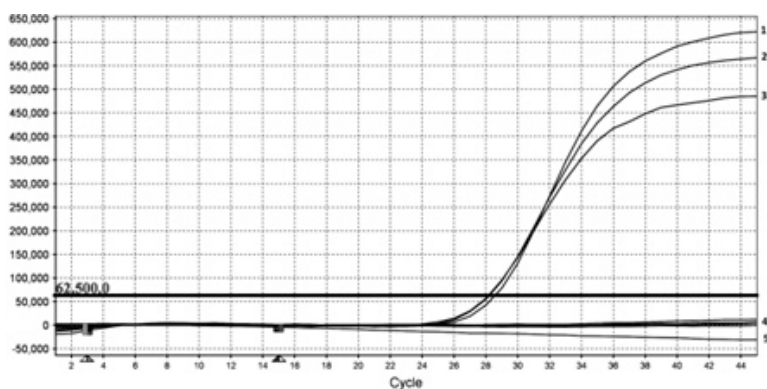
Олигонуклеотидные праймеры и флуоресцентно-меченые зонды, подобранные для одновременной амплификации трех групп аллельных вариантов гена-мишени, были использованы с целью подбора оптимальных условий реакции. В ходе проведения исследований использовали разные концентрации компонентов реакционной смеси: количество праймеров и зондов, ионов Mg^{2+} , Taq-полимеразы; варьировали температурный режим отжига праймеров; изменяли параметры программы амплификации: продолжительность этапов, количество циклов.

На специфичность и эффективность ПЦР значительное влияние оказывает концентрация ионов Mg^{2+} . Поэтому важно подобрать оптимальную концентрацию этого компонента. В результате экспериментов по оценке эффективности ПЦР-РВ при изменении конечной концентрации Mg^{2+} в реакционной смеси в диапазоне 1,5–3,0 мМ с шагом в 0,5 мМ была определена концентрация, при которой наблюдалось минимальное значение порогового цикла в ходе амплификации полиморфных вариантов гена HLA-DQB1 – 2,5 мМ.

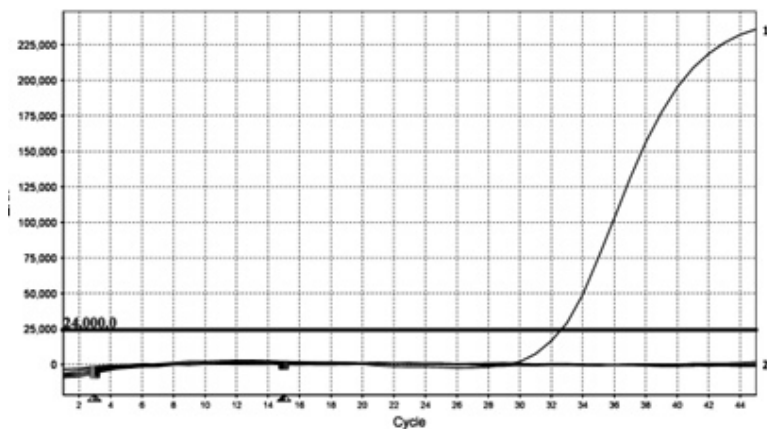
Важным параметром, определяющим чувствительность и специфичность ПЦР, является температура отжига праймеров. Определение оптимальных температурных условий реакции проводилось с использованием градиента температур для отжига праймеров в диапазоне 55–65 °С. Накопление продукта амплификации в указанном температурном интервале характеризовалось практически одинаковым C_t и близкими значениями уровня флуоресценции. Наилучшее соотношение уровней флуоресценции и максимальной эффективности реакции наблюдалось при температуре отжига праймеров 55 °С.

На следующем этапе была проведена оценка влияния последовательных 10-кратных разведений ДНК на ход реакции. Чрезмерное количество ДНК-матрицы может стать причиной ингибирования ПЦР или привести к накоплению неспецифических продуктов, если число циклов амплификации велико. При недостаточном количестве ДНК получение ампликонов может быть затруднено. В реакции использовано 100 нг тотальной ДНК, выделенной из ядерных клеток крови. Такое количество ДНК оказалось необходимым и достаточным для эффективного протекания реакции, накопления специфического продукта и отсутствия неспецифического взаимодействия между матрицей и гибридизационным зондом. Наблюдалось увеличение порогового цикла при каждом последующем разведении, что свидетельствовало о снижении эффективности процесса. Опытным путем установлена оптимальная продолжительность этапов и количество циклов амплификации, равное 45.

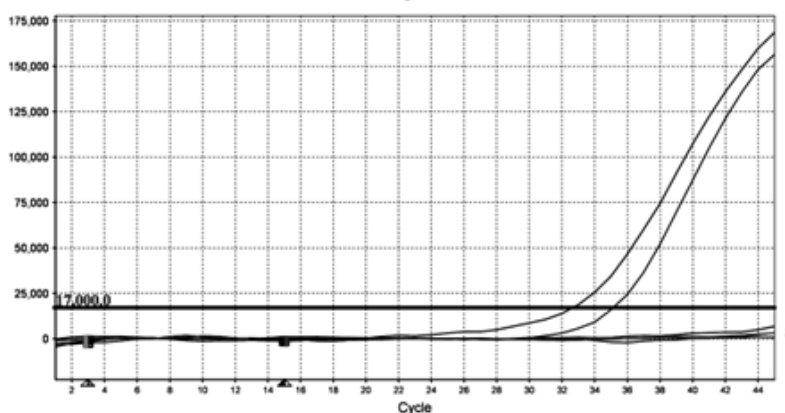
Для детекции продуктов амплификации в реакционную смесь вводился зонд, содержащий флуоресцентную метку (FAM) и гаситель флуоресценции (TAMRA). В случае образования специфического продукта зонд разрушался, что приводило к возрастанию уровня флуоресценции, который фиксировался оптической системой амплификатора. Накопление флуоресцентного сигнала по каналу FAM при отсутствии такового для отрицательных образцов свидетельствовало об амплификации специфических аллелей на матрице хромосомальной ДНК (рисунок 1).



А



Б

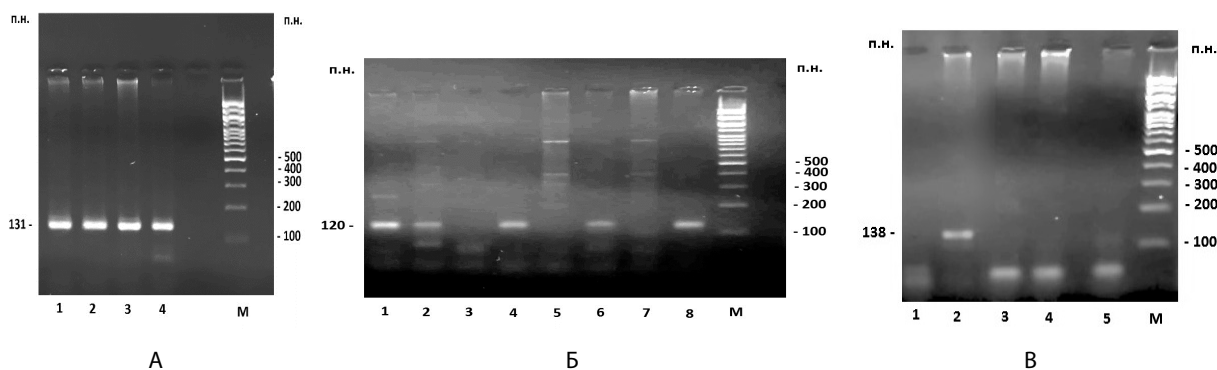


В

- А) 1–3 – ДНК, содержащие фрагмент гена HLA-DQB1*03:01; 4 – ДНК, не содержащие фрагмент гена HLA-DQB1*03:01; 5 – отрицательный контроль;
 Б) 1 – ДНК, содержащая фрагмент гена HLA-DQB1*04; 2 – ДНК, не содержащие фрагмент гена HLA-DQB1*04 и отрицательный контроль;
 В) 1, 2 – ДНК, содержащая фрагмент гена HLA-DQB1*05; 3 – ДНК, не содержащие фрагмент гена HLA-DQB1*05 и отрицательный контроль.

Рисунок 1 – Оценка наличия специфических фрагментов гена HLA-DQB1 методом ПЦР-РВ

Несмотря на то, что специфичность реакции ПЦР в режиме реального времени обеспечивается комплементарным взаимодействием зонда и матрицы, дополнительным подтверждением является также размер полученного в реакции фрагмента, ограниченного используемыми праймерами. Параллельно был проведен контроль накопления амплифицированных продуктов и их размера электрофоретическим методом (рисунок 2).



М – ДНК-маркер «O'RangeRuler 100 bp DNA Ladder» (Thermo Scientific, США);
 А) 1–4 – амплификаты, полученные с использованием олигонуклеотидных праймеров к аллели HLA-DQB1*03:01;
 Б) 1, 2, 4, 6, 8 – амплификаты, полученные с использованием олигонуклеотидных праймеров к группе аллелей HLA-DQB1*05;
 В) 2 – амплификат, полученный с использованием олигонуклеотидных праймеров к группе аллелей HLA-DQB1*04.

Рисунок 2 – Анализ продуктов амплификации полиморфных вариантов гена HLA-DQB1

Анализ образцов в агарозном геле, положительных по результатам ПЦР-РВ, показал наличие ампликонов размером 120, 131 и 138 п. н., что соответствует, по данным литературы, размерам аллельных вариантов исследуемого гена – HLA-DQB1*05, 03:01, *04 соответственно [13].

Проведен предварительный анализ частоты встречаемости исследуемых аллелей/групп аллелей в группе добровольцев, проживающих на территории Республики Беларусь (таблица 1).

Таблица 1 – Анализ частоты встречаемости аллелей / групп аллелей гена HLA-DQB1

Наименование аллелей / групп аллелей гена HLA-DQB1					
*03:01 (n = 47)		*04 (n = 47)		*05 (n = 47)	
абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%
27	57,4	3	6,4	19	40,4

Установлено, что преобладающими аллелями среди исследуемых являются HLA-DQB1*03:01 (57,4 %). Реже других встречалась группа аллелей HLA-DQB1*04 (6,4 %). В настоящее время информация о частотах аллелей генов системы HLA размещена в международных базах данных GENE[VA] [20] и AFND [3]. Северо-восточный регион Европы, к которому относится и Республика Беларусь, представлен в этих базах данных не в полной мере, в связи с чем сведения о распространенности некоторых аллелей могут быть ограниченными по отношению к другим европейским популяциям. Исходя из информации, представленной в источнике AFND, процент выявления группы аллелей HLA-DQB1*04 в популяциях немцев, испанцев, поляков, русских (6,3 %, 6,1 %, 6,1 %, 6,3 % соответственно) практически идентичен полученному результату. Наиболее близкая частота встречаемости аллеля HLA-DQB1*03:01 наблюдалась в ходе исследования, проведенного в Италии, – 57 %. Вариант обнаружения группы аллелей HLA-DQB1*05 в изучаемой группе согласуется с данными, собранными в этнических группах Чехии и России, – 41,2 %, 41,5 % соответственно [3, 18, 19].

Заключение. Отработана методология генотипирования полиморфных вариантов гена HLA-DQB1 на основе ПЦР в режиме реального времени. Определены оптимальные температурно-временные параметры и состав реакционной смеси для выявления искомым аллелей. Проведен анализ частоты встречаемости исследуемых аллелей в группе лиц, проживающих на территории Республики Беларусь. Преобладающим является аллель HLA-DQB1*03:01 (57,4 % случаев), реже встречались группы аллелей HLA-DQB1*04 и HLA-DQB1*05 (6,4 % и 40,4 % случаев соответственно). Полученный профиль частоты распределения аллелей гена HLA-DQB1 согласуется с результатами популяционных исследований, проведенных на территории Европы. Результаты исследования будут использованы при изучении частоты встречаемости и влияния исследуемых варибельных вариантов гена HLA-DQB1 на формирование аллергических заболеваний, в частности поллиноза.

Сведения о НИР. НИР «Изучить аллельные полиморфизмы генов, ассоциированных с развитием поллиноза» подпрограммы «Геномика, эпигеномика, биоинформатика» государственной программы научных исследований «Биотехнологии-2» на 2021–2025 годы, регистрационный номер 20230261.

Литература

1. Kenneth, M. The major histocompatibility complex and its function / M. Kenneth, W. Casey // *Janeway's Immunology*. – 9th ed. – New York, NY, 2016. – Ch. 6. – P. 231–251. – URL: https://immunologos.files.wordpress.com/2020/08/janeways-immunobiology-9th-ed_booksmedicos.org_pdf (date of access: 26.10.2023).
2. The HLA genomic loci map: expression, interaction, diversity and disease / T. Shiina, K. Hosomichi, H. Inoko, J. K. Kulski // *Journal of Human Genetics*. – 2009. – Vol. 54, № 1. – P. 15–39.
3. The Allele Frequency Net Database (AFND) : [website] – URL: <http://www.allelefrequencies.net>. (date of access: 26.10.2023).
4. HLA-DRB1*1501 and HLA-DQB1*0301 alleles are positively associated with HPV16 infection-related Kazakh esophageal squamous cell carcinoma in Xinjiang China / J. Hu, L. Li, L. Pang [et al.] // *Cancer Immunology, Immunotherapy*. – 2012. – Vol. 61, № 11. – P. 2135–2141.
5. HLA-DQA1 and HLA-DQB1 alleles, conferring susceptibility to celiac disease and type 1 diabetes, are more expressed than non-predisposing alleles and are coordinately regulated / F. Farina, S. Picascia, L. Pisapia [et al.] // *Cells*. – 2019. – Vol. 8, № 7. – P. 751.
6. Human leukocyte antigen DQ (HLA-DQ) genotypes and haplotypes and their association with phenotype in patients with celiac disease in India / B. S. Ramakrishna, G. Venugopal, A. Singh [et al.] // *JGH Open*. – 2021. – Vol. 5, № 10. – P. 1190–1196.
7. HLA-DQB1*05:02, *05:03, and *03:01 alleles as risk factors for myasthenia gravis in a Spanish cohort / M. Salvado, J. L. Caro, C. Garcia [et al.] // *Neurological Sciences*. – 2022. – Vol. 43, № 8. – P. 5057–5065.
8. Association of human leukocyte antigen (HLA) class II (DRB1 and DQB1) alleles and haplotypes with rheumatoid arthritis in Sudanese patients / A. A. Ali, K. E. Khalid, S. E. Mohammed [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2023. – DOI: 10.3389/fimmu.2023.1178546.
9. HLA-DQB1*02 and DQB1*06:03P are associated with peanut allergy / A. M. Madore, V. T. Vaillancourt, Y. Asai [et al.] // *European Journal of Human Genetics*. – 2013. – Vol. 21, № 10. – P. 1181–1184.
10. Study of HLA class II loci reveals DQB1*03:03:02 as a risk factor for asthma in a Pakistani population / N. Saba, G. K. Raja, O. Yusuf [et al.] // *International Journal of Immunogenetic*. – 2022. – Vol. 49, № 6. – P. 372–378.
11. HLA-DRB1*08:03:02 and HLA-DQB1*06:01:01 are associated with house dust mite-sensitive allergic rhinitis in Chinese subjects / Y. Zhao, Y. Zhao, J. Li [et al.] // *International Forum of Allergy & Rhinology*. – 2016. – Vol. 6, № 8. – P. 854–861.
12. Иммуногенетические маркеры поллинозов из числа аллельных вариантов генов HLA-DRB1 и DQB1 / Е. Е. Андреева, Б. А. Шамгунова, Е. А. Попова, Л. В. Заклякова // *Астраханский медицинский журнал*. – 2010. – Т. 5, № 3. – С. 25–30.
13. Allele-specific quantification of HLA-DQB1 gene expression by real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction / B. Ferstl, T. Zacher, B. Lauer [et al.] // *Genes and Immunity*. – 2004. – Vol. 5, № 5. – P. 405–416.
14. Dunckley, H. HLA typing by SSO and SSP methods / H. Dunckley // *Methods in Molecular Biology*. – 2012. – Vol. 882. – P. 9–25.
15. Comparison of HLA-DRB1 typing by DNA-RFLP, PCR-SSO and PCR-SSP methods and their application in providing matched unrelated donors for bone marrow transplantation / F. Jordan, A. J. McWhinnie, S. Turner [et al.] // *Tissue Antigens*. – 1995. – Vol. 45, № 2. – P. 103–110.
16. High throughput HLA sequence-based typing (SBT) utilizing the ABI Prism 3700 DNA Analyzer / S. D. Adams, K. C. Barracchini, T. B. Simonis [et al.] // *Tumori*. – 2001. – Vol. 87, № 2. – P. 340–43.
17. Development of a new HLA-DRB real-time PCR typing method / N. Casamitjana, R. Faner, A. Santamaria [et al.] // *Human Immunology*. – 2005. – Vol. 66, № 1. – P. 85–91.
18. The HLA-net GENE[RATE] pipeline for effective HLA data analysis and its application to 145 population samples from Europe and neighbouring areas / J. M. Nunes, S. Buhler, D. Roessli, A. Sanchez-Mazas // *Tissue Antigens*. – 2014. – Vol. 83, № 5. – P. 307–323.
19. Common and well-documented HLA alleles over all of Europe and within European sub-regions: A catalogue from the European Federation for Immunogenetics / A. Sanchez-Mazas, J. M. Nunes, D. Middleton [et al.] // *HLA*. – Vol. 89, № 2. – P. 104–113.

**POLYMORPHIC VARIANTS OF THE HLA-DQB1 GENE:
GENOTYPING AND PREVALENCE IN THE STUDY GROUP**

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

¹Education Institution «Belarusian State Medical University», Minsk, Belarus

The major human histocompatibility gene complex – the HLA complex – is one of the most complicated and polymorphic regions in the human genome. The distribution features of the genes of this system and their products play an important role in the development of various diseases, including allergic ones. In numerous populations not only a diverse distribution of alleles of the HLA system can be observed, but also ambiguous conclusions regarding their association with multiple pathologies. This article provides information on the methodology used in genotyping allelic variants of the HLA-DQB1 gene (HLA-DQB1*03:01, *04, *05) and the results of the prevalence of these gene variants in a group of people living on the territory of the Republic of Belarus. In 57.4 % of cases the HLA-DQB1*03:01 alleles were detected. The HLA-DQB1*04 and HLA-DQB1*05 allele groups occurred at a lower frequency (6.4 % and 40.4 % of cases, respectively). The distribution results of the allele groups studied are consistent with similar data obtained in researches conducted in the European Region.

Keywords: human leukocyte antigens, major histocompatibility complex, polymorphism.

References

1. Kenneth M., Casey W. The major histocompatibility complex and its function. *Janeway's Immunology*. Chap. 6. New York, NY: Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC. 9th ed.; 2016: 231–51. Available at: https://immunologos.files.wordpress.com/2020/08/janeways-immunobiology-9th-ed_booksmedicos.org_pdf (accessed 26 October 2023).
2. Shiina T., Hosomichi K., Inoko H., Kulski J. K. The HLA genomic loci map: expression, interaction, diversity and disease. *J Hum Genet*. 2009; 54(1): 15–39.
3. The Allele Frequency Net Database (AFND). Available at: <http://www.allelefrequencies.net> (accessed 26 October 2023).
4. Hu J., Li L., Pang L. et al. HLA-DRB1*1501 and HLA-DQB1*0301 alleles are positively associated with HPV16 infection-related Kazakh esophageal squamous cell carcinoma in Xinjiang China. *Cancer Immunol Immunother*. 2012; 61(11): 2135–41.
5. Farina F., Picascia S., Pisapia L. et al. HLA-DQA1 and HLA-DQB1 alleles, conferring susceptibility to celiac disease and type 1 diabetes, are more expressed than non-predisposing alleles and are coordinately regulated. *Cells*. 2019; 8(7): 751.
6. Ramakrishna B. S., Venugopal G., Singh A. et al. Human leukocyte antigen DQ (HLA-DQ) genotypes and haplotypes and their association with phenotype in patients with celiac disease in India. *JGH Open*. 2021; 5(10): 1190–6.
7. Salvado M., Caro J. L., Garcia C. et al. HLA-DQB1*05:02, *05:03, and *03:01 alleles as risk factors for myasthenia gravis in a Spanish cohort. *Neurol Sci*. 2022; 43(8): 5057–65.
8. Ali A. A., Khalid K. E., Mohammed S. E. et al. Association of Human Leukocyte Antigen (HLA) class II (DRB1 and DQB1) alleles and haplotypes with rheumatoid arthritis in Sudanese patients. *Front Immunol*. 2023; 14: DOI: 10.3389/fimmu.2023.1178546.
9. Madore A. M., Vaillancourt V. T., Asai Y. et al. HLA-DQB1*02 and DQB1*06:03P are associated with peanut allergy. *Eur J Hum Genet*. 2013; 21(10): 1181–4.
10. Saba N., Raja G. K., Yusuf O. et al. Study of HLA class II loci reveals DQB1*03:03:02 as a risk factor for asthma in a Pakistani population. *Int J Immunogenet*. 2022; 49(6): 372–8.
11. Zhao Y., Zhao Y., Li J. et al. HLA-DRB1*08:03:02 and HLA-DQB1*06:01:01 are associated with house dust mite-sensitive allergic rhinitis in Chinese subjects. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2016; 6(8): 854–61.
12. Andreeva E. E., Shamgunova B. A., Popov E. A., Zaklyakova L. V. Hla-genes Drb1 and Dqb1 as immunogenetic markers of pollinosis. *Astrakhan Med J*. 2010; 5(3): 25–30.
13. Ferstl B., Zacher T., Lauer B. et al. Allele-specific quantification of HLA-DQB1 gene expression by real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Genes Immun*. 2004; 5(5): 405–16.
14. Dunckley H. HLA typing by SSO and SSP methods. *Methods Mol Biol*. 2012; 882: 9–25.
15. Jordan F., McWhinnie A. J., Turner S. et al. Comparison of HLA-DRB1 typing by DNA-RFLP, PCR-SSO and PCR-SSP methods and their application in providing matched unrelated donors for bone marrow transplantation. *Tissue antigens*. 1995; 45(2): 103–10.

16. Adams S. D., Barracchini K. C., Simonis T. B. et al. High throughput HLA sequence-based typing (SBT) utilizing the ABI Prism 3700 DNA Analyzer. *Tumori*. 2001; 87(2): S40–3.

17. Casamitjana N., Faner R., Santamaria A. et al. Development of a new HLA-DRB real-time PCR typing method. *Hum Immunol*. 2005; 66(1): 85–91.

18. Nunes J. M., Buhler S., Roesli D., Sanchez-Mazas A. et al. The HLA-net GENE[RATE] pipeline for effective HLA data analysis and its application to 145 population samples from Europe and neighbouring areas. *Tissue Antigens*. 2014; 83(5): 307–23.

19. Sanchez-Mazas A., Nunes J. M., Middleton D. et al. Common and well-documented HLA alleles over all of Europe and within European sub-regions: a catalogue from the European Federation for Immunogenetics. *HLA*. 2017; 89(2): 104–13.

e-mail для переписки: olgaparhom4uk@mail.ru

Поступила 01.10.2024

УДК 613.6

Сухова А. В., Преображенская Е. А.

ГИГИЕНИЧЕСКИЕ И МЕДИКО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ В РАЗВИТИИ КОРПОРАТИВНЫХ ПРОГРАММ СОХРАНЕНИЯ И УКРЕПЛЕНИЯ ЗДОРОВЬЯ

*Федеральное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека,
г. Мытищи, Россия*

Аннотация. Сохранение здоровья работающего населения является приоритетным направлением государственной политики. Выполнено обоснование гигиенических и медико-профилактических мероприятий в рамках корпоративных программ для повышения эффективности сохранения и укрепления здоровья работников. В работе использована нормативно-правовая документация по вопросам охраны здоровья и обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения. Выделены и сформированы эффективные подходы к определению содержания и организации гигиенических и медико-профилактических мероприятий корпоративных программ, включая минимизацию профессиональных и непрофессиональных рисков, оптимизацию и повышение безопасности труда, формирование навыков здорового образа жизни и поведения для профилактики заболеваний. Разработка и реализация корпоративных программ должна основываться на четких алгоритмах взаимодействия работодателей, работников, медицинских организаций, контрольно-надзорных органов.

Ключевые слова: сохранение и укрепление здоровья, работники, корпоративные программы, гигиенические мероприятия, медико-профилактические мероприятия, управление профессиональным риском, здоровый образ жизни.

Введение. Проблема здоровья трудоспособного населения нашей страны является важнейшей государственной задачей, решение которой крайне необходимо для обеспечения успешного экономического и социального развития. Решение вопросов сохранения трудовых ресурсов как важнейшей производительной силы общества невозможно без коренного улучшения условий труда и состояния здоровья работников [1, 2].

Эффективные корпоративные программы сохранения и укрепления здоровья, помимо мероприятий, направленных на формирование здорового образа жизни, должны предусматривать минимизацию негативного влияния неблагоприятных производственных факторов на организм работающего человека и включать решение задач по управлению здоровьем работающих, включая профилактику профессиональных заболеваний [3–6].

Однако на настоящем этапе при формировании и реализации на предприятии корпоративных программ практически не учитывают современные гигиенические принципы оценки и управления

рисками факторов профессиональной среды, гигиенические здоровьесберегающие технологии, принципы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

Цель работы – обосновать гигиенические и медико-профилактические мероприятия в рамках корпоративных программ для повышения эффективности сохранения и укрепления здоровья работников.

Материалы и методы. При осуществлении настоящей работы с применением аналитического метода использовалась нормативно-правовая документация по вопросам охраны здоровья и обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

Результаты и их обсуждение. Эффективная модель корпоративной программы сохранения здоровья трудоспособного населения подразумевает многоуровневое межотраслевое взаимодействие, участниками которого являются: 1) Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2) предприятие – работодатель, включая администрацию и службу охраны труда предприятия; 3) медицинские организации, осуществляющие медицинское обслуживание работников; 4) центр профессиональной патологии.

Среди современных инструментов оценки влияния условий труда на состояние здоровья работников, позволяющих в том числе определить приоритетность профилактических мероприятий, выделяют оценку и управление риском.

В основе гигиенического подхода к формированию корпоративных программ находится выявление и оценка факторов риска здоровью работников, которые включают гигиеническую оценку факторов производственной среды и трудового процесса, оценку показателей состояния здоровья работников, оценку факторов образа жизни.

Гигиеническая оценка факторов производственной среды и трудового процесса осуществляется работодателем и Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека в соответствии с методическими документами¹ с использованием: сведений специальной оценки условий труда², данных производственного лабораторного контроля³, социально-гигиенического мониторинга⁴, санитарно-гигиенической характеристики условий труда⁵, результатов контрольно-надзорных мероприятий⁶, оценки профессионального риска здоровью^{7,8,9}, материалов расследования профессиональных заболеваний¹⁰.

Оценка состояния здоровья включает определение показателей заболеваемости с временной утратой трудоспособности (далее – ВУТ), анализ данных периодических медицинских осмотров, показателей профессиональной заболеваемости.

Оценка заболеваемости с ВУТ выполняется работодателем, учитываются следующие показатели:

- число случаев нетрудоспособности;
- число дней нетрудоспособности.

¹ Р 2.2.2006-05 «Руководство по гигиенической оценке факторов рабочей среды и трудового процесса. Критерии и классификация условий труда», утвержденное руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 29.06.2005.

² Федеральный закон от 28.12.2013 № 426-ФЗ «О специальной оценке условий труда».

³ Федеральный закон от 30.03.1999 № 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения».

⁴ Постановление Правительства Российской Федерации от 02.02.2006 № 60 «Об утверждении Положения о проведении социально-гигиенического мониторинга».

⁵ Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 28.05.2001 № 176 «О совершенствовании системы расследования и учета профессиональных заболеваний в Российской Федерации».

⁶ Постановление Правительства Российской Федерации от 30.06.2021 № 1100 «О Федеральном государственном санитарно-эпидемиологическом контроле (надзоре)».

⁷ Приказ Министерства труда и социальной защиты Российской Федерации от 28.12.2021 № 926 «Об утверждении Рекомендаций по выбору методов оценки уровней профессиональных рисков и по снижению уровней таких рисков».

⁸ Приказ Министерства труда и социальной защиты Российской Федерации от 31.01.2022 № 36 «Об утверждении Рекомендаций по классификации, обнаружению, распознаванию и описанию опасностей».

⁹ Р 2.2.3969-23 «Руководство по оценке профессионального риска для здоровья работников. Организационно-методические основы, принципы и приоритеты оценки», утвержденное Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 07.09.2023.

¹⁰ Постановление Правительства Российской Федерации от 05.07.2022 № 1206 «О порядке расследования и учета случаев профессиональных заболеваний работников».

Оценка показателей состояния здоровья работников по результатам предварительных и периодических медицинских осмотров (далее – ПМО)¹¹ проводится медицинскими организациями (далее – МО).

По итогам проведения периодических осмотров МО обобщает результаты и совместно с территориальными органами исполнительной власти, уполномоченными на осуществление государственного контроля и надзора в сфере обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения, и представителями работодателя составляет заключительный акт.

При формировании корпоративных программ сохранения здоровья используются следующие показатели состояния здоровья, представленные в заключительном акте по результатам ПМО:

- численность работников, нуждающихся в обследовании в центре профпатологии;
- численность работников, нуждающихся в амбулаторном обследовании и лечении;
- численность работников, нуждающихся в стационарном обследовании и лечении;
- численность работников, нуждающихся в санаторно-курортном лечении;
- численность работников, нуждающихся в диспансерном наблюдении.

Заключительный акт по результатам ПМО содержит рекомендации работодателю по реализации комплекса оздоровительных мероприятий, включая профилактические и другие мероприятия.

Оценка состояния здоровья по показателям профессиональной заболеваемости включает:

- число впервые выявленных случаев профессиональных заболеваний за год;
- накопленная профессиональная заболеваемость.

Оценку факторов образа жизни, определяющих риск хронических неинфекционных заболеваний (далее – ХНИЗ), проводят медицинские организации по результатам медицинских осмотров и работодатель – на основании анкетирования, опросов и др.

Медицинские организации выявляют факторы риска развития ХНИЗ при проведении профилактических медицинских осмотров и диспансеризации^{12, 13}.

Работодатель с целью анализа состояния здоровья трудового коллектива, мониторинга рисков развития ХНИЗ может проводить анкетирование работников для выявления потребностей работников в области здоровьесбережения.

По результатам проведенной оценки факторов риска для здоровья работающих осуществляется определение направлений, разработка и проведение корпоративных программ сохранения здоровья.

Корпоративные программы направлены на улучшение условий труда работника, коррекцию поведенческих факторов риска и включают:

- гигиенические и санитарно-технические мероприятия по обеспечению безопасности и благополучия производственной среды и условий труда (рекомендации к условиям труда в зависимости от вида деятельности и особенностей технологических процессов представлены в методических рекомендациях¹⁴);

- гигиенические и медико-профилактические мероприятия по созданию условий для формирования мотивации и поддержания здорового образа жизни: мероприятия, направленные на продвижение здорового питания среди работников (пропаганда здорового питания, создание условий на предприятии для соблюдения режима приема пищи, питьевого режима, обеспечение работников питьевой водой, включение рецептуры здоровых блюд в столовых и кафетериях предприятия), отказ от вредных привычек, увеличение физической активности, повышение нервно-психологической устойчивости;

¹¹ Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 28.01.2021 № 29н «Об утверждении Порядка проведения обязательных предварительных и периодических медицинских осмотров работников, предусмотренных частью четвертой статьи 213 Трудового кодекса Российской Федерации, перечня медицинских противопоказаний к осуществлению работ с вредными и (или) опасными производственными факторами, а также работам, при выполнении которых проводятся обязательные предварительные и периодические медицинские осмотры».

¹² Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 27.04.2021 № 404н «Об утверждении порядка проведения профилактического медицинского осмотра и диспансеризации определенных групп взрослого населения».

¹³ Методические рекомендации «Стандартная процедура по проведению профилактического медицинского осмотра и диспансеризации определенных групп взрослого населения» / Драпкина О. М., Дроздова Л. Ю., Якимова Ю. В., Егоров В. А., Раковская Ю. С. – М.: ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России, 2022. – 74 с.

¹⁴ МР 2.2.0244-21. 2.2. Гигиена труда. Методические рекомендации по обеспечению санитарно-эпидемиологических требований к условиям труда. Методические рекомендации, утвержденные Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 17.05.2021 (вместе с «Рекомендациями к условиям труда в зависимости от вида деятельности и особенностей технологических процессов»).

– медико-профилактические мероприятия по повышению информированности работников по вопросам профилактики заболеваний и здорового образа жизни (беседы, лекции, семинары, тренинги, образовательные программы, демонстрация видеороликов, видеоматериалов на ТВ-панели учреждения, интернет-ресурсы, информационные стенды);

– медико-профилактические мероприятия по организации медицинского обеспечения, профилактике заболеваний и укреплению здоровья работников (проведение и контроль за прохождением ПМО, организация проведения профилактических осмотров работников, предоставление соцпакета на медицинские услуги (санаторно-курортное лечение, полис добровольного медицинского страхования)).

Мероприятия корпоративных программ, реализуемые органами и учреждениями государственного санитарно-эпидемиологического надзора:

– государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия трудоспособного населения;

– обеспечение государственного санитарно-эпидемиологического надзора на предприятиях. При выявлении нарушения санитарного законодательства, а также при угрозе возникновения и распространения инфекционных заболеваний и массовых неинфекционных заболеваний (отравлений) должностные лица, осуществляющие федеральный государственный санитарно-эпидемиологический надзор, имеют право давать гражданам и юридическим лицам предписания, обязательные для исполнения ими в установленные сроки, об устранении выявленных нарушений санитарно-эпидемиологических требований;

– выявление и установление причин и условий возникновения профессиональных заболеваний и заболеваний, связанных с условиями труда;

– реализация мер по гигиеническому воспитанию и обучению населения, санитарно-гигиеническому просвещению населения и пропаганде здорового образа жизни;

– оказание методической помощи в повышении уровня знаний хозяйствующих субъектов по вопросам обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия работающих на предприятии;

– проведение научных исследований в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия трудоспособного населения.

Разработка и реализация мероприятий по сохранению здоровья работников должны быть основаны на четких алгоритмах взаимодействия работодателей, работников, медицинских организаций, контрольно-надзорных органов. Межотраслевой гигиенический подход, опирающийся на научно обоснованные разработки в области комплексной оценки степени вредности и опасности условий и охраны труда и целенаправленных управленческих решениях, позволит обеспечить эффективность системы охраны здоровья работающего населения и пролонгировать трудовое долголетие.

Заключение. Разработанный гигиенический подход к формированию корпоративных программ позволяет сформировать риск-ориентированные корпоративные программы по минимизации профессионального риска для здоровья работников, сохранению и укреплению здоровья на основе обеспечения безопасных условий труда, повышения информированности работников по вопросам профилактики ХНИЗ и здорового образа жизни, создания условий для формирования навыков здорового образа жизни, коррекции поведенческих факторов риска заболеваний, медико-профилактических мероприятий по организации медицинского обеспечения работников.

Сведения о НИР. НИР «Социально-гигиенические подходы к формированию современных корпоративных систем сохранения здоровья работников ведущих отраслей промышленности», регистрационный номер 121090800068-3.

Литература

1. Бухтияров, И. В. Современное состояние и основные направления сохранения и укрепления здоровья работающего населения России / И. В. Бухтияров // Медицина труда и промышленная экология. – 2019. – № 9. – С. 527–532.

2. Фесенко, М. А. Программы корпоративного здоровья работников – основа сохранения трудового долголетия / М. А. Фесенко // Здоровье и качество жизни : материалы III Всерос. конф. с междунар. участием, 10–15 сент. 2018 г. / М-во науки и высш. образования Рос. Федерации, Рос. Акад. Наук Сибир. отд., ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований» [и др.] ; под общ. ред. И. В. Кудавой. – Иркутск, 2018. – С. 301–304.

3. Корпоративные программы укрепления профессионального здоровья работников в Российской Федерации / С. П. Ковалев, Е. Р. Яшина, И. Б. Ушаков [и др.] // Экология человека. – 2020. – № 10. – С. 31–37.

4. Корпоративные программы укрепления здоровья работников – обзор зарубежных публикаций / М. В. Попович, А. В. Маньшина, А. В. Концевая, О. М. Драпкина // Профилактическая медицина. – 2020. – Т. 23, № 3. – С. 156–161.

5. Обзор отечественного опыта реализации корпоративных программ укрепления здоровья, направленных на коррекцию поведенческих факторов риска / А. В. Концевая, А. А. Анциферова, А. М. Калинина [и др.] // Профилактическая медицина. – 2021. – Т. 24, № 1. – С. 109–117.

6. Аксенова, Е. И. Корпоративные практики управления здоровьем сотрудников: обзор / Е. И. Аксенова, С. Ю. Горбатов, Н. Н. Камынина. – М.: ГБУ «НИИОЗММ ДЗМ», 2022. – URL: <https://nioz.ru/upload/iblock/8c9/8c9313bb066d0b84bdb63c111b173925.pdf> (дата обращения: 01.10.2024).

Sukhova A. V., Preobrazhenskaya E. A.

HYGIENIC AND MEDICAL PREVENTIVE MEASURES IN THE DEVELOPMENT OF CORPORATE PROGRAMS FOR THE PRESERVATION AND PROMOTION OF HEALTH

*Federal Budgetary Establishment of Science «Federal Scientific Center of Hygiene named after F. F. Erisman»
of the Federal Service for Surveillance on Consumer Protection
and Human Wellbeing, Mytishchi, Russia*

Health preservation of the working population is a priority direction of the state policy. The aim is to justify hygienic and medical and preventive measures within the framework of corporate programs to improve the efficiency of preservation and promotion of workers' health. The paper uses regulatory and legal documentation on health protection and sanitary and epidemiological well-being of the population. Effective approaches to determining the content and organization of hygienic and medical and preventive measures of corporate programs, including minimization of occupational and non-occupational risks, optimization and improvement of occupational safety, formation of healthy lifestyle skills and behavior for disease prevention are identified and formed. The development and implementation of corporate programs should be based on clear algorithms of interaction between employers, employees, medical organizations, control and supervisory authorities.

Keywords: health preservation and promotion, employees, corporate programs, hygiene measures, medical and preventive measures, occupational risk management, healthy lifestyle.

References

1. Bukhtiyarov I. V. Current state and main directions of preservation and strengthening of health of the working population of Russia. *Russ J of Occup Health and Ind Ecol.* 2019; 9: 27–532. (in Russian)

2. Fesenko M. A. *Corporate healthcare programs as the basis of labour longevity. Health and quality of life: materials of the III All-Russian Conference with international participation.* 2018, Sept. 10-15; Irkutsk; 2018: 301–4.

3. Kovalev S. P., Yashina E. R., Ushakov I. B. et al. Corporate workplace health promotion programs in the Russian Federation. *Ekologiya cheloveka.* 2020; 10: 31–7. (in Russian)

4. Popovich M. V., Manshina A. V., Kontsevaia A. V., Drapkina O. M. Corporate worker health promotion programs – review of foreign publications. *The Russ J of Preventive Med.* 2020; 23(3): 156–61. (in Russian)

5. Kontsevaya A. V., Antsiferova A. A., Kalinina A. M. et al. Review of domestic experience in implementing corporate health promotion programs aimed at correcting behavioral risk factors. *The Russ J of Preventive Med.* 2021; 24(1): 109–17. (in Russian)

6. Akseanova E. I., Gorbatov S. YU., Kamynina N. N. Corporate employee health management practices: an overview: review. M.: GBU «НИОЗММ ДЗМ», 2022. Available at: <http://nioz.ru/upload/iblock/8c9/8c9313bb066d0b84bdb63c111b173925.pdf> (accessed 01 October 2024).

e-mail для переписки: annasukhova-erisman@yandex.ru

Поступила 09.10.2024

Терпинская Т. И.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА АНТИМУТАГЕННОЙ И АНТИКАНЦЕРОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ТРАНСГЕННОГО ЛАКТОФЕРРИНА ЧЕЛОВЕКА

Государственное научное учреждение «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Трансгенный человеческий лактоферрин при пероральном введении мышам линии Af не оказал влияния на спонтанный канцерогенез в легких у мышей, но при этом снижал интенсивность возникновения аденом, индуцированных уретаном, в 1,2 раза и вызывал тенденцию к подавлению индуцированного циклофосфаном опухолеобразования. Трансгенный человеческий лактоферрин ослаблял повреждающее действие циклофосфана на хромосомный аппарат клеток костного мозга мышей, снижая долю аберрантных клеток за счет уменьшения количества клеток с множественными повреждениями хромосом и с полной деструкцией хромосом. Эти результаты, наряду с данными литературы, являются основанием для более детального исследования антимутагенных и антиканцерогенных свойств трансгенного лактоферрина человека как потенциального препарата (пищевой добавки) для смягчения побочного действия химиотерапии при лечении опухолей, а также для снижения вредных последствий загрязнения окружающей среды мутагенными и канцерогенными факторами.

Ключевые слова: лактоферрин, канцерогенез, мутанез.

Введение. Лактоферрин является гликопротеином массой примерно 76–80 кДа. Впервые лактоферрин был выделен из молока, а благодаря своему структурному сходству с сывороточным трансферрином и способности связывать ионы железа (Fe^{3+}) классифицирован как член семейства трансферринов. Трехмерные структуры лактоферринов были описаны для пяти видов, включая человека, корову, верблюда, буйвола и лошадь, все эти лактоферрины имеют очень высокое структурное сходство [1, 2].

Основными источниками лактоферрина являются молозиво и молоко. Лактоферрин содержится и в других экзокринных жидкостях – слюне, слезах, сперме, а также на поверхностях слизистых оболочек и в гранулах полиморфноядерных лейкоцитов, таких как нейтрофилы, дегрануляция которых приводит к высвобождению лактоферрина в кровь. Концентрация лактоферрина в крови здоровых людей составляет около 0,02–2,00 мкг/мл и быстро увеличивается до 200 мкг/мл во время воспаления, инфекции, роста опухоли или перегрузки железом [1, 3].

На сегодняшний день известно, что лактоферрин проявляет антибактериальные, противовирусные, противовоспалительные, иммуномодулирующие, антиоксидантные свойства [1–3]. Представленные в литературе данные [4–7], в том числе опубликованные ранее результаты авторов данной работы [8], свидетельствуют, что лактоферрин и продукт его гидролиза пепсином – лактоферрицин – обладают также противоопухолевой активностью различной степени выраженности. Показана способность лактоферрина усиливать действие химиопрепаратов, таких как цисплатин [9] и доксорубин [10]. Клинические исследования позволили сделать вывод о хорошей переносимости лактоферрина, целесообразности дальнейшего изучения с целью использования в терапии опухолей, а также для коррекции вызванной химиотерапией анемии [11], нарушений вкуса, обоняния [12] и кишечной микрофлоры [13].

Это обуславливает интерес к экспериментальным исследованиям эффективности лактоферрина в качестве протектора генетических и онкогенных повреждений, как спонтанных, так и вызванных химическими мутагенами и канцерогенами.

Цель работы – изучение влияния трансгенного человеческого лактоферрина (далее – тчЛФ) на уровень спонтанного и индуцированного химическими мутагенами опухолеобразования в легких у мышей, а также на выраженность мутагенеза, вызванного применением циклофосфана, в клетках костного мозга мышей.

Материалы и методы.

Экспериментальные животные. Мыши линии Af, характеризующиеся высокой частотой образования аденом легких [14], самцы весом 19–21 г.

Препараты: человеческий лактоферрин, полученный из молока трансгенных коз (тчЛФ), республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси

по животноводству», г. Жодино, Беларусь), циклофосфан (Республиканское унитарное предприятие «Белмедпрепараты», г. Минск, Беларусь), уретан (Sigma, США), колхицин (Sigma, США), краситель Гимза (Sigma, США).

Исследование антиканцерогенного эффекта тчЛФ на модели канцерогенеза в легких у мышей. Половине мышей вводили уретан подкожно в дозе 1,5 мг/г. Группы мышей, получивших и не получивших инъекцию уретана, в свою очередь, делили каждую на две части, одна из которых получала, другая – не получала тчЛФ. Животные получали тчЛФ перорально, начиная со дня введения уретана, 1 раз в день в дозе 200 мг/кг (наносили 10 мкл раствора тчЛФ на корень языка) 10 раз в течение 2 недель, 2 недели перерыв. Всего было проведено 6 курсов, животные получали тчЛФ 60 раз, общая доза составила в среднем 240 мг/мышь за все время приема, $n = 29-30$. Проведено также исследование, имевшее целью оценить канцерогенный эффект противоопухолевого препарата циклофосфана и протекторный эффект тчЛФ. Мышам начинали давать тчЛФ в режиме, указанном выше. Через неделю части животным инъецировали циклофосфан в дозе 100 мг/кг внутривентриально двукратно через 48 часов или пятикратно через 24 часа, продолжая курс кормления тчЛФ, $n = 8-10$. На 169-е сутки животных выводили из эксперимента, извлекали легкие, фиксировали в 10%-м растворе формалина, через неделю подсчитывали количество опухолевых узлов на легкие на мышь, анализируя доли легких с помощью лупы 10х.

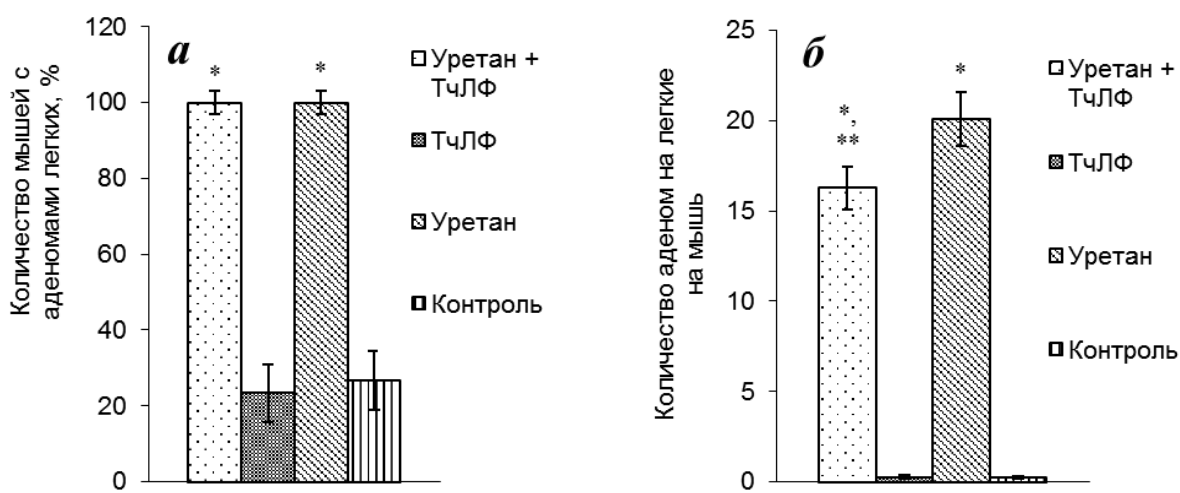
Влияние тчЛФ на выраженность мутагенеза, вызванного применением циклофосфана, в клетках костного мозга мышей. Мыши получали тчЛФ (200 мг/кг, перорально, 1 раз в день) 12 раз в течение 16 суток (всего 48 мг/мышь). Через 30 минут после последней обработки тчЛФ мышам вводили циклофосфан в дозе 100 мг/кг внутривентриально. В контрольных сериях мышам вводили только циклофосфан, только тчЛФ или изотонический раствор хлорида натрия, $n = 5$. Через 24 часа готовили цитогенетические препараты клеток костного мозга и анализировали хромосомы согласно методу, описанному в [15].

Выбирая дозу тчЛФ, мы учитывали то, что в дозе 100 мг/кг как тчЛФ [8], так и бычий лактоферрин *in vivo* [4] и *in vitro* [5] оказывает противоопухолевые эффекты. Для более четкого выявления эффектов тчЛФ мы использовали двукратно увеличенную дозу, принимая во внимание, что такой уровень эндогенно синтезированного лактоферрина может быть достигнут в крови у человека [1]. Показано, что пероральные дозы тчЛФ до 2000 мг/кг хорошо переносятся, не вызывая выраженных признаков токсичности [3]. Однако так как иммуногенные и иммуномодулирующие свойства тчЛФ исследованы недостаточно, в наших опытах мы ограничились дозой 200 мг/кг. Опыты с участием животных проводились в соответствии с положениями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в научных исследованиях, и были одобрены комиссией по биоэтике при государственном научном учреждении «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси».

Статистическая обработка. Рассчитывали частоту опухолеобразования в легких (выраженную в процентах долю мышей с аденомами легких) и интенсивность опухолеобразования в легких (количество аденом легких на мышь среди всех мышей серии и среди мышей с аденомами, $S \pm S_x$). При статистической обработке данных о хромосомной структуре клеток костного мозга метафазные пластинки от всех мышей серии объединяли, количество проанализированных метафазных пластинок в каждой серии составило 500 (по 100 метафаз от каждой мыши). Рассчитывали количество поврежденных клеток (%) и количество аберраций на клетку ($S \pm S_x$) во всех сериях. Для оценки достоверности разницы между сериями использовался *t*-критерий Стьюдента, различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Анализ легких мышей показал, что частота опухолеобразования у интактных животных составила 27 %, значительно не отличаясь от частоты опухолеобразования в легких у мышей, получавших тчЛФ, – 23 % (рисунок 1а). Мутаген и канцероген уретан повысил частоту опухолеобразования в легких у мышей до 100 % (в 3,7 раза), тчЛФ не повлиял на частоту опухолеобразования (рисунок 1а).

Интенсивность спонтанного опухолеобразования у интактных животных составила ($0,3 \pm 0,1$) аденомы на мышь в расчете на всех мышей серии (рисунок 1б) и ($1,0 \pm 0,0$) в расчете на мышей с аденомами; тчЛФ не повлиял на эти показатели. Интенсивность опухолеобразования после введения уретана составила в среднем ($20,1 \pm 1,5$) аденомы на мышь (увеличение в 20 раз в расчете на всех мышей серий «Уретан» и «Контроль» и в 74 раза в расчете на мышей данных серий с аденомами). ТчЛФ способствовал снижению количества уретан-индуцированных аденом в 1,2 раза (рисунок 1б).



* $p < 0,05$ при сравнении с серией «Контроль»;

** $p < 0,05$ при сравнении серий «Уретан + тчЛФ» и «Уретан».

Рисунок 1 – Влияние трансгенного человеческого лактоферрина (тчЛФ) на частоту (а) и интенсивность (б) спонтанного и индуцированного уретаном опухолеобразования в легких у мышей

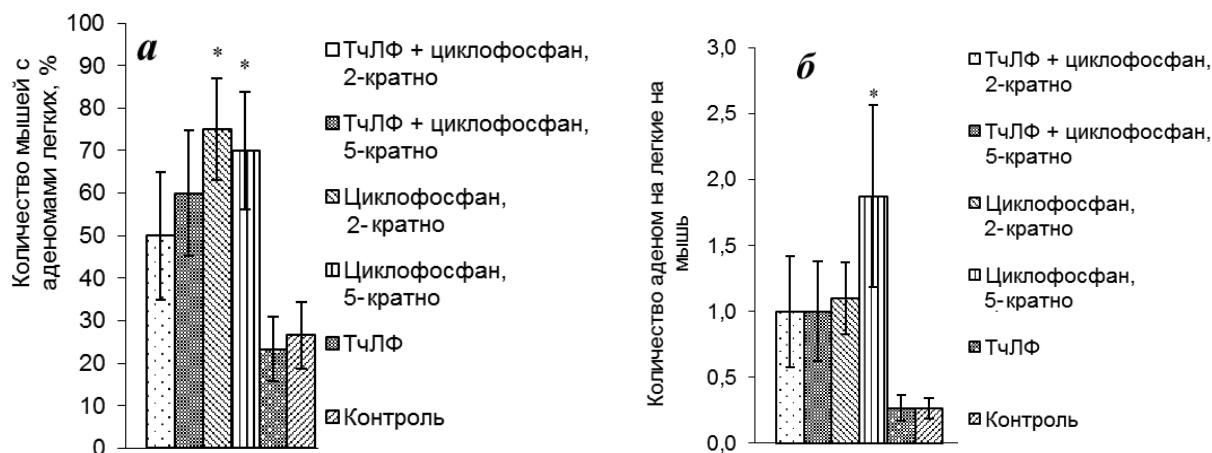
Механизм противоопухолевого действия циклофосфана, представителя ряда алкилирующих препаратов, связан с повреждением ДНК опухолевых клеток. Однако этот препарат нарушает структуру ДНК не только злокачественных, но и нормальных клеток, являясь мутагеном. Мы предположили, что циклофосфан, как и уретан, будет способствовать усилению канцерогенеза в легких у мышей.

В наших экспериментах двукратное или пятикратное введение мышам 100 мг/кг циклофосфана привело к увеличению частоты опухолеобразования в 3 и 2,8 раза соответственно (рисунок 2а). Частота опухолеобразования у мышей, обработанных циклофосфаном и получивших тчЛФ, снизилась в 1,6 раза у мышей, которым циклофосфан вводили дважды, и в 1,2 раза у мышей, которым циклофосфан вводили пятикратно, в обоих случаях $p > 0,05$ при сравнении и с контролем, и с серией «Циклофосфан» (рисунок 2а). Тот факт, что при сравнении серий, где мыши получали циклофосфан и тчЛФ, с контролем (без введения препаратов) статистическая достоверность не достигнута, отражает наблюдающуюся выраженную тенденцию к снижению частоты опухолеобразования.

Интенсивность опухолеобразования у животных, получивших циклофосфан дважды или пятикратно, повысилась в 4,1 и в 7,0 раза соответственно по сравнению с интактными мышами (в расчете на всех мышей серии) (рисунок 2б). В расчете на мышей с аденомами интенсивность опухолеобразования повысилась в 1,4 и 2,5 раза. Потребление тчЛФ мышами, получившими циклофосфан двукратно, практически не повлияло на интенсивность опухолеобразования. В то же время среди мышей серии, получивших циклофосфан пятикратно, наблюдалось снижение интенсивности опухолеобразования в 1,9 раза (в расчете на всех мышей серии) и в 1,6 раза (в расчете на мышей с аденомами), хотя и не достигшее статистической значимости. Эти результаты, выявляющие тенденцию к снижению частоты и интенсивности индуцированного циклофосфаном опухолеобразования в легких у мышей под влиянием тчЛФ, могут быть основанием для более подробного изучения протекторного эффекта тчЛФ.

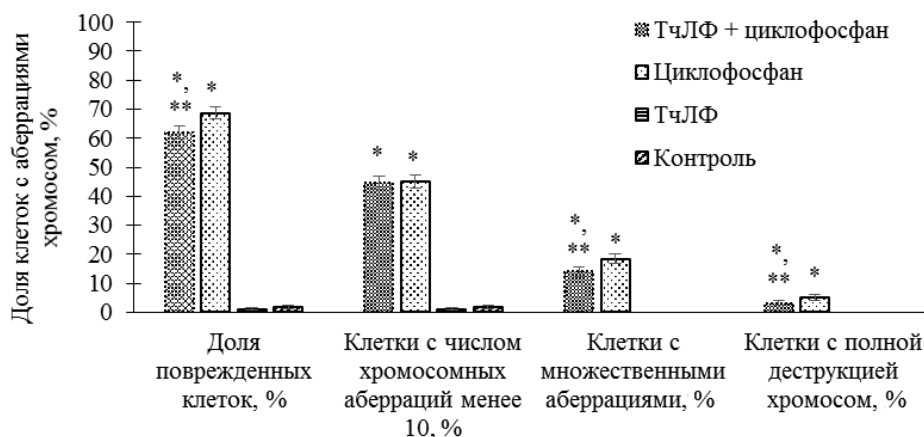
Внутрибрюшинное введение мышам 100 мг/кг циклофосфана привело к значительному повреждению хромосом – доля aberrантных клеток составила 68,60 %, $p < 0,05$ при сравнении с контролем. Потребление тчЛФ мышами, получившими затем циклофосфан, привело к снижению доли aberrантных клеток на 9,6 %, $p < 0,05$ (62 % aberrантных клеток), за счет уменьшения клеток с множественными повреждениями и клеток с полной деструкцией хромосом (рисунок 3).

В таблице 1 отражен уровень хромосомных aberrаций различного типа в клетках костного мозга с числом aberrаций менее 10. Из таблицы видно, что тчЛФ способствовал снижению количества двойных фрагментов (в 1,6 раза, $p < 0,05$ при сравнении серий «Циклофосфан» и «ТчЛФ + циклофосфан»), статистически достоверных отличий между сериями при анализе других типов aberrаций «Циклофосфан» и «ТчЛФ + циклофосфан» не выявлено.



* $p < 0,05$ при сравнении с серией «Контроль».

Рисунок 2 – Влияние трансгенного человеческого лактоферрина (тчЛФ) на частоту (а) и интенсивность (б) спонтанного и индуцированного циклофосфаном опухолеобразования в легких у мышей



* $p < 0,05$ при сравнении с серией «Контроль»;

** $p < 0,05$ при сравнении серий «ТчЛФ + циклофосфан» и «Циклофосфан».

Рисунок 3 – Влияние трансгенного человеческого лактоферрина (тчЛФ) и циклофосфана на долю клеток с aberrациями хромосом в костном мозге мышей

При исследовании влияния тчЛФ на уровень хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей выявлено, что доля клеток с хромосомными aberrациями в контрольной серии (изотонический раствор хлорида натрия) составила 1,89 %, а в серии, где мышей обрабатывали тчЛФ, – 1,00 % ($p > 0,1$). Введение тчЛФ не повлияло на долю клеток с aberrациями хромосом в костном мозге мышей и на уровень хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей (рисунок 3, таблица 1).

Таблица 1 – Уровень хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей в группе клеток с числом aberrаций менее 10

№	Серия опыта	Одиночные фрагменты	Парные фрагменты	Обмены	Общее количество aberrаций на клетку
1.	ТчЛФ + циклофосфан	4,43 ± 0,21*	0,45 ± 0,04*,**	0,05 ± 0,00*	4,93 ± 0,22*
2.	Циклофосфан	4,23 ± 0,18*	0,74 ± 0,07*	0,03 ± 0,00*	5,00 ± 0,20*
3.	ТчЛФ	1,00 ± 0,00	0	0	1,00 ± 0,05
4.	Контроль	0,78 ± 0,00	0,22 ± 0,00	0	1,00 ± 0,04

* $p < 0,05$ при сравнении с серией «Контроль»;

** $p < 0,05$ при сравнении серий «ТчЛФ + циклофосфан» и «Циклофосфан».

Полученные нами результаты об эффектах тчЛФ согласуются с данными других авторов, представленными в литературе. Бычий лактоферрин или рекомбинантный человеческий лактоферрин (а также лактоферрицин – продукт гидролитического расщепления лактоферрина) оказывали прямое ингибирующее действие на опухолевые клетки, индуцируя клеточную гибель, главным образом, апоптоз, и торможение пролиферации. *In vitro* наблюдалось подавление роста линий феохромоцитомы, остеосаркомы, рака молочной железы, печени, головы и шеи, легких [4], шейки матки [5], простаты [6], колоRECTального рака [7].

Кроме того, лактоферрин способен влиять на опухолевый рост опосредованно, через активацию противоопухолевых иммунных реакций. Лактоферрин индуцировал синтез цитокинов и ферментов, способствующих повышению активности натуральных киллеров и цитотоксических Т-лимфоцитов – интерлейкина-12, интерлейкина-18, интерферона-гамма [16], а также вызывал дифференцировку и апоптоз супрессорных клеток миелоидного происхождения, противодействуя формированию иммуносупрессивного микроокружения опухоли [17].

Что касается хромосомных aberrаций, то влияние лактоферрина на этот показатель ранее не изучалось. Снижение количества aberrантных клеток под влиянием тчЛФ может быть, в определенной степени, следствием активизации репаративных процессов. На модели клеток линии рака толстой кишки человека Сасо-2, подвергнутых ультрафиолетовому облучению, показано, что обработка лактоферрицином ведет к увеличению экспрессии флэп-эндонуклеазы 1. Это является свидетельством интенсификация репаративного синтеза ДНК [18]. Однако, скорее всего, это не может существенно повлиять на грубые нарушения хромосомной структуры, такие как множественные повреждения и полная деструкция хромосом. В качестве более вероятного механизма можно предположить возможное усиление пролиферации гемопоэтических клеток костного мозга при воздействии лактоферрина, хотя данные о влиянии лактоферрина на гемопоэз, и в частности миелопоэз, противоречивы, что подробно проанализировано в обзоре [19]. При усилении пролиферативных процессов грубые нарушения хромосомного аппарата не позволяют клеткам пройти митоз, и, таким образом, они будут удалены из клеточной популяции, а клетки без видимых нарушений пройдут деление и пополнят эту популяцию. Продемонстрирована также способность лактоферрина восстанавливать иммунный ответ, поврежденный цитостатиками, такими как циклофосфан [20] и метотрексат [21]. Активизация иммунной системы, в свою очередь, может способствовать удалению клеток со значительными повреждениями наследственных структур.

Начальный этап канцерогенеза подразумевает, наряду с другими условиями, появление мутантных клеток с онкогенным потенциалом. Поэтому воздействие на организм мутагенов сопровождается усилением опухолеобразования. Выявленное нами антимулагенное действие тчЛФ может обуславливать и его антиканцерогенную активность.

Заключение. Таким образом, нами получены экспериментальные данные, свидетельствующие, что пероральное введение тчЛФ, получаемого из молока животных-производителей, мышам линии Af, характеризующейся повышенной частотой возникновения аденом легких, в общей курсовой дозе 240 мг на мышь в течение 169 суток не оказывало влияния на частоту и интенсивность спонтанного возникновения у животных аденом легких.

Введение мышам канцерогена и мутагена уретана способствовало повышению как частоты, так и интенсивности опухолеобразования. ТчЛФ не оказывал влияния на частоту опухолеобразования в легких у мышей, однако способствовал снижению интенсивности возникновения индуцированных уретаном аденом в 1,2 раза.

Циклофосфан индуцировал опухолеобразование в легких у мышей линии Af. У мышей, получавших тчЛФ, наблюдалась тенденция к снижению индуцированного циклофосфаном опухолеобразования в легких.

ТчЛФ в общей курсовой дозе 48 мг на мышь в течение 12 суток до введения циклофосфана оказывал антимулагенный эффект, ослабляя повреждающее действие циклофосфана на хромосомный аппарат клеток костного мозга и способствуя снижению доли aberrантных клеток за счет уменьшения количества клеток с множественными повреждениями хромосом и клеток с полной деструкцией хромосом.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что тчЛФ, полученный из молока трансгенных коз, способствует снижению интенсивности возникновения индуцированных уретаном аденом в легких у мышей, а также снижению мутагенеза, вызванного применением циклофосфана, в клетках костного мозга мышей.

Описанные выше результаты, наряду с данными литературы, являются основанием для более детального исследования антимутагенных и антиканцерогенных свойств тчЛФ. ТчЛФ может рассматриваться как потенциальный препарат (пищевая добавка) для снижения и восстановления повреждений, вызываемых мутагенами и канцерогенами среды. В практическом плане тчЛФ можно рассматривать как препарат для смягчения побочного действия химиотерапии при лечении опухолей, а также для снижения вредных последствий загрязнения окружающей среды мутагенными и канцерогенными факторами.

Сведения о НИР. НИР «Разработать предложения для производства пищевых продуктов с полезными физиологическими свойствами на основе лактоферрина человека, получаемого из молока животных-продуцентов (Трансген-2)», регистрационный номер 20121076.

Литература

1. Lactoferrin: an overview of its main functions, immunomodulatory and antimicrobial role, and clinical significance / M. Sienkiewicz, A. Jaśkiewicz, A. Tarasiuk, J. Fichna // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. – 2022. – Vol. 62, № 22. – P. 6016–6033.

2. Piacentini, R. Lactoferrins in their interactions with molecular targets: a structure-based overview / R. Piacentini, A. Boffi, E. Milanetti // *Pharmaceuticals*. – 2024. – Vol. 17, № 3. – P. 398. – DOI: 10.3390/ph17030398.

3. A review of the safety evidence on recombinant human lactoferrin for use as a food ingredient / R. Vishwanath-Deutsch, D. C. Dallas, P. Besada-Lombana [et al.] // *Food and Chemical Toxicology*. – 2024. – Vol. 189. – P. 114727. – DOI: 10.1016/j.fct.2024.114727.

4. Investigation and comparison of the anti-tumor activities of lactoferrin, α -lactalbumin, and β -lactoglobulin in A549, HT29, HepG2, and MDA231-LM2 tumor models / H. Y. Li, P. Li, H. G. Yang [et al.] // *Journal of Dairy Science*. – 2019. – Vol. 102, № 11. – P. 9586–9597.

5. Apoptotic effects of bovine apo-lactoferrin on HeLa tumor cells / C. Luzi, F. Brisdelli, R. Iorio [et al.] // *Cell Biochemistry and Function*. – 2017. – Vol. 35, № 1. – P. 33–41.

6. Bovine lactoferrin induces cell death in human prostate cancer cells / V. P. Rocha, S. P. C. Campos, C. A. Barros [et al.] // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2022. – Vol. 2022. – P. 2187696. – DOI: 10.1155/2022/2187696.

7. Jiang, R. Bovine lactoferrin and lactoferricin exert antitumor activities on human colorectal cancer cells (HT-29) by activating various signaling pathways / R. Jiang, B. Lönnerdal // *Biochemistry and Cell Biology*. – 2017. – Vol. 95, № 1. – P. 99–109.

8. Терпинская, Т. И. Влияние лактоферрина человека, полученного из молока трансгенных коз, на рост перевиваемых опухолей у мышей / Т. И. Терпинская, Л. В. Павловец // *Здравоохранение*. – 2013. – № 2. – С. 33–37.

9. Lactoferricin B reverses cisplatin resistance in head and neck squamous cell carcinoma cells through targeting PD-L1 / P. Zhang, J. Liu, W. Li [et al.] // *Cancer Medicine*. – 2018. – Vol. 7, № 7. – P. 3178–3187.

10. Doxorubicin conjugated to immunomodulatory anticancer lactoferrin displays improved cytotoxicity overcoming prostate cancer chemo resistance and inhibits tumour development in TRAMP mice / J. S. Shankaranarayanan, J. R. Kanwar, A. J. Al-Juhaishi, R. K. Kanwar // *Scientific Reports*. – 2016. – Vol. 6. – P. 32062. – DOI: 10.1038/srep32062.

11. Efficacy and safety of oral lactoferrin supplementation in combination with rHuEPO-beta for the treatment of anemia in advanced cancer patients undergoing chemotherapy: open-label, randomized controlled study / A. Macciò, C. Madeddu, G. Gramignano [et al.] // *Oncologist*. – 2010. – Vol. 15, № 8. – P. 894–902.

12. Lactoferrin supplementation for taste and smell abnormalities among patients receiving cancer chemotherapy / G. J. Lesser, M. B. Irby, R. C. Taylor [et al.] // *Support Care in Cancer*. – 2022. – Vol. 30, № 3. – P. 2017–2025.

13. Oral lactoferrin supplementation during induction chemotherapy promotes gut microbiome eubiosis in pediatric patients with hematologic malignancies / F. D'Amico, N. Decembrino, E. Muratore [et al.] // *Pharmaceutics*. – 2022. – Vol. 14, № 8. – P. 1705. – DOI: 10.3390/pharmaceutics14081705.

14. Медведев, Н. Н. Практическая генетика / Н. Н. Медведев. – М. : Наука, 1966. – 238 с.

15. Изучение протекции и репарации индуцированных радиомиметиком уретаном и γ -облучением онкогенных и генетических повреждений / Г. В. Красковский, Г. И. Миронова, Т. И. Миголена [и др.] // *Доклады Национальной академии наук Беларуси*. – 1998. – Т. 42, № 2. – С. 89–94.

16. Orally administered lactoferrin exerts an antimetastatic effect and enhances production of IL-18 in the intestinal epithelium / T. Kuhara, M. Iigo, T. Itoh [et al.] // *Nutrition and Cancer*. – 2000. – Vol. 38, № 2. – P. 192–199.

17. Lactoferrin deficiency induces a pro-metastatic tumor microenvironment through recruiting myeloid-derived suppressor cells in mice / L. Wei, X. Zhang, J. Wang [et al.] // *Oncogene*. – 2020. – Vol. 39, № 1. – P. 122–135.

18. Reduction of ultraviolet light-induced DNA damage in human colon cancer cells treated with a lactoferrin-derived peptide / C. Freiburghaus, H. Lindmark-Månsson, M. Paulsson, S. Oredsson // *Journal of Dairy Science*. – 2012. – Vol. 95, № 10. – P. 5552–5560.

19. Artym, J. The effects of lactoferrin on myelopoiesis: can we resolve the controversy? / J. Artym, M. Zimecki // *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*. – 2007. – Vol. 61. – P. 129–150.

20. Artym, J. Reconstitution of the cellular immune response by lactoferrin in cyclophosphamide-treated mice is correlated with renewal of T cell compartment / J. Artym, M. Zimecki, M. L. Kruzel // *Immunobiology*. – 2003. – Vol. 207, № 3. – P. 197–205.

21. Artym, J. Effect of lactoferrin on the methotrexate-induced suppression of the cellular and humoral immune response in mice / J. Artym, M. Zimecki, M. L. Kruzel // *Anticancer Research*. – 2004. – Vol. 24, № 6. – P. 3831–3836.

Terpinskaya T. I.

EXPERIMENTAL EVALUATION OF ANTIMUTAGENIC AND ANTICANCEROGENIC ACTIVITY OF TRANSGENIC HUMAN LACTOFERRIN

*State Scientific Institution «Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus»,
Minsk, Belarus*

Transgenic human lactoferrin when administered orally to Af mice had no effect on spontaneous lung carcinogenesis in mice, but it reduced the intensity of urethane-induced adenomas by 1.2-fold and tended to suppress cyclophosphane-induced tumour formation. Transgenic human lactoferrin attenuated the damaging effect of cyclophosphan on the chromosomal apparatus of bone marrow cells of mice, reducing the proportion of aberrant cells by decreasing the number of cells with multiple chromosome damage and with complete destruction of chromosomes. These results, along with the literature data, are the basis for a more detailed study of antimutagenic and anticarcinogenic properties of transgenic human lactoferrin as a potential drug (food supplement) to mitigate the side effects of chemotherapy in the treatment of tumors, as well as to reduce the harmful effects of environmental pollution by mutagenic and carcinogenic factors.

Keywords: lactoferrin, carcinogenesis, mutanegenesis.

Referenses

1. Sienkiewicz M., Jaśkiewicz A., Tarasiuk A., Fichna J. Lactoferrin: an overview of its main functions, immunomodulatory and antimicrobial role, and clinical significance. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2022; 62(22): 6016–33.

2. Piacentini R., Boffi A., Milanetti E. Lactoferrins in their interactions with molecular targets: a structure-based overview. *Pharmaceuticals*. 2024; 17(3): 398. DOI: 10.3390/ph17030398.

3. Vishwanath-Deutsch R., Dallas D. C., Besada-Lombana P. et al. A review of the safety evidence on recombinant human lactoferrin for use as a food ingredient. *Food Chem Toxicol*. 2024; 189: 114727. DOI: 10.1016/j.fct.2024.114727.

4. Li H. Y., Li P., Yang H. G. et al. Investigation and comparison of the anti-tumor activities of lactoferrin, α -lactalbumin, and β -lactoglobulin in A549, HT29, HepG2, and MDA231-LM2 tumor models. *J Dairy Sci*. 2019; 102(11): 9586–97.

5. Luzi C., Brisdelli F., Iorio R. et al. Apoptotic effects of bovine apo-lactoferrin on HeLa tumor cells. *Cell Biochem Funct*. 2017; 35(1): 33–41.

6. Rocha V. P., Campos S. P. C., Barros C. A. et al. Bovine lactoferrin induces cell death in human prostate cancer cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2022; 2022: 2187696. DOI: 10.1155/2022/2187696.

7. Jiang R., Lönnnerdal B. Bovine lactoferrin and lactoferricin exert antitumor activities on human colorectal cancer cells (HT-29) by activating various signaling pathways. *Biochem Cell Biol*. 2017; 95(1): 99–109.

8. Terpinskaya T. I., Pavlovec L. V. Effect of human lactoferrin isolated from transgenic goat milk on transplantable tumour growth in mice. *Healthcare*. 2013; (2): 33–7. (in Russian)

9. Zhang P., Liu J., Li W. et al. Lactoferrin B reverses cisplatin resistance in head and neck squamous cell carcinoma cells through targeting PD-L1. *Cancer Med.* 2018; 7(7): 3178–87.
10. Shankaranarayanan J. S., Kanwar J. R., Al-Juhaishi A. J., Kanwar R. K. Doxorubicin conjugated to immunomodulatory anticancer lactoferrin displays improved cytotoxicity overcoming prostate cancer chemo resistance and inhibits tumour development in TRAMP mice. *Sci Rep.* 2016; 6: 32062. DOI: 10.1038/srep32062.
11. Macciò A., Madeddu C., Gramignano G. et al. Efficacy and safety of oral lactoferrin supplementation in combination with rHuEPO-beta for the treatment of anemia in advanced cancer patients undergoing chemotherapy: open-label, randomized controlled study. *Oncologist.* 2010; 15(8): 894–902.
12. Lesser G. J., Irby M. B., Taylor R. C. et al. Lactoferrin supplementation for taste and smell abnormalities among patients receiving cancer chemotherapy. *Support Care Cancer.* 2022; 30(3): 2017–25.
13. D'Amico F., Decembrino N., Muratore E. et al. Oral lactoferrin supplementation during induction chemotherapy promotes gut microbiome eubiosis in pediatric patients with hematologic malignancies. *Pharmaceutics.* 2022; 14(8): DOI: 10.3390/pharmaceutics14081705.
14. Medvedev N. N. Practical genetics. Moscow: Nauka; 1966. (in Russian)
15. Kraskovskij G. V., Mironova G. I., Migolenya T. I. et al. Study of protection and repair (therapy) of oncogenic and genetic lesions induced by radiomimetic urethane and γ -irradiation. *Doklady Natl Acad Sci Belarus.* 1998; 42(2): 89–94. (in Russian)
16. Kuhara T., Iigo M., Itoh T. et al. Orally administered lactoferrin exerts an antimetastatic effect and enhances production of IL-18 in the intestinal epithelium. *Nutr Cancer.* 2000; 38(2): 192–9.
17. Wei L., Zhang X., Wang J. et al. Lactoferrin deficiency induces a pro-metastatic tumor microenvironment through recruiting myeloid-derived suppressor cells in mice. *Oncogene.* 2020; 39(1): 122–35.
18. Freiburghaus C., Lindmark-Månsson H., Paulsson M., Oredsson S. Reduction of ultraviolet light-induced DNA damage in human colon cancer cells treated with a lactoferrin-derived peptide. *J Dairy Sci.* 2012; 95(10): 5552–60.
19. Artym J., Zimecki M. The effects of lactoferrin on myelopoiesis: can we resolve the controversy? *Postepy Hig Med Dosw.* 2007; 61: 129–50.
20. Artym J., Zimecki M., Kruzel M. L. Reconstitution of the cellular immune response by lactoferrin in cyclophosphamide-treated mice is correlated with renewal of T cell compartment. *Immunobiology.* 2003; 207(3): 197–205.
21. Artym J., Zimecki M., Kruzel M. L. Effect of lactoferrin on the methotrexate-induced suppression of the cellular and humoral immune response in mice. *Anticancer Res.* 2004; 24(6): 3831–6.

e-mail для переписки: terpinskayat@mail.ru

Поступила 01.10.2024

Раздел 9

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

УДК 616.36-002.12-036.2:614.4(476)

Амвросьева Т. В., Поклонская Н. В., Колтунова Ю. Б., Дашкевич А. М., Запольская В. В.

ЭПИЗОДЫ ГРУППОВОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ А НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

*Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии
и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь*

Аннотация. Долгое время заболеваемость вирусным гепатитом А (далее – ГА) в Республике Беларусь носила спорадический характер. Однако в 2023 г. начался ее рост с регистрацией групповых эпизодов.

Во время эпизода групповой заболеваемости, имевшей место в июле 2023 г., РНК вируса ГА (далее – ВГА) была выявлена в биологическом материале всех заболевших пациентов. Генотипирование возбудителя по участку гена VP1-2A позволило отнести его к субгенотипу IA. Проведенный биоинформационный геномный анализ «белорусских» ВГА показал их высокое сходство (99,8 %) с таковыми, циркулировавшими в России и ставшими причиной вспышки заболеваемости в г. Челябинске в 2023 г.

С начала 2024 г. в Республике Беларусь этиологическим фактором групповой заболеваемости вирусным ГА стал субгенотип IB. Все вирусы, обнаруженные у пациентов из разных областей республики, достоверно формировали единый кластер, что указывало на наличие эпидемической связи между ними. На основании филогенетической реконструкции установлено, что ВГА IB субгенотипа, идентифицированные в других странах, в том числе в России (Рязань, 2022 г.), не формировали общие кластеры с «белорусским» субгенотипом.

Ключевые слова: групповая заболеваемость, вирусный гепатит А, субгенотип, филогенетический анализ.

Введение. Улучшение санитарно-гигиенических условий жизни и внедрение средств вакцинопрофилактики вирусного гепатита А привело к тому, что в течение последних десятилетий в мировом масштабе имела место тенденция к снижению заболеваемости данной инфекцией. Общее число смертей от острого ГА в мире снизилось с 33,6 тыс. в 1990 г. до 18,6 тыс. в 2017 г. [1]. Вместе с тем в последние годы в ряде стран зарегистрировано значительное ухудшение эпидемиологической ситуации. В первую очередь следует отметить начавшийся в 2016 г. резкий рост заболеваемости в США вследствие многочисленных вспышек среди неблагополучных групп населения – наркоманов, бездомных, мужчин, практикующих секс с мужчинами [2]. Ситуация не нормализовалась до настоящего времени и на конец 2023 г. насчитывалось около 45 тыс. заболевших и более 400 смертей [3].

На территории Европейского союза и Великобритании в 2016–2018 гг. также имела место крупная вспышка острого ГА [4]. После периода пандемии COVID-19, который сопровождался снижением уровня заболеваемости данной инфекцией благодаря строгим санитарно-эпидемиологическим мерам, в конце 2022 г. в Европе начался рост заболеваемости. Основным путем передачи инфекции был пищевой, связанный с употреблением в пищу импортированных замороженных ягод [5]. В 2023 г. в Словакии зарегистрирована крупная вспышка вирусного ГА, во время которой пострадало более 1000 человек [6]. У наших восточных соседей в России в 2023 г. также имел место ряд вспышек вирусного ГА с выраженным ростом заболеваемости в целом [7].

Период наблюдения за вирусным ГА в Республике Беларусь условно можно разделить на 2 этапа: 1982–2003 гг. – довакцинальный, с 2004 г. – поствакцинальный. В довакцинальный период годовая заболеваемость составляла $(44,47 \pm 0,58)$ случая на 100 тыс. населения. С введением обязательной вакцинации заболеваемость снизилась в 44,9 раза. Вплоть до 2024 г. она колебалась в пределах 2,03–0,24 случая на 100 тыс. населения [8]. С конца 2023 г. начался ее поступательный рост, и по итогам истекших 6 месяцев 2024 г. показатель заболеваемости превысил значение 6,6 случая на 100 тыс. населения. Есть

основания полагать, что при сохраняющейся ее годовой динамике прогноз по окончании года будет неблагоприятным (в диапазоне значений – 10,8–11,4 случая на 100 тыс. населения).

Цель – проанализировать групповую заболеваемость вирусным ГА на территории Республики Беларусь, установить генотипический пейзаж возбудителя, циркулирующего в последние годы.

Материалы и методы. Материалом для исследований были образцы биологического материала от пациентов (сыворотки крови, копрофильтраты) с неуточненным вирусным гепатитом (n = 249), доставленные в РНПЦ эпидемиологии и микробиологии из разных регионов Беларуси в 2023–2024 гг.

Выделение нуклеиновых кислот проводили с использованием коммерческих наборов «НК-экстра» (пр-во ГУ РНПЦ эпидемиологии и микробиологии). Реакцию ОТ-ПЦР осуществляли с помощью коммерческой тест-системы АмплиСенс (РФ) в соответствии с инструкцией производителя.

Молекулярное типирование выявленных ВГА выполняли методом секвенирования фрагментов участка VP1-2A вирусного генома длиной 371 п.о. Поиск гомологичных нуклеотидных последовательностей осуществляли в базе данных NCBI с использованием программы BLAST [9]. Компьютерный анализ последовательностей проводили с помощью программы MEGA версии 7.0 [10]. Филогенетическую реконструкцию выполняли методом максимального правдоподобия (Maximum Likelihood, ML) [11] на основании общей обратимой во времени модели (General Time Reversible model, GTR) [12]. Статистическую достоверность определяли методом бутстреппинга [13].

Ретроспективный эпидемиологический анализ заболеваемости ВГА проведен в Республике Беларусь за 42 года (1982–2023 гг.) по данным официальной регистрации в учреждениях, осуществляющих государственный санитарный надзор. Изучена многолетняя динамика заболеваемости всего населения в целом и возрастная структура заболевших ВГА (удельный вес) за 2023 г. и 6 месяцев 2024 г. по отдельным возрастным группам.

Результаты и обсуждение. Как известно, длительный период снижения заболеваемости вирусным ГА часто предшествует ее резкому росту, что связано в том числе с цикличностью данной инфекции (периоды подъема и спада составляют 4–5 лет). Такой рост имел место в Республике Беларусь с начала 2024 г. (рисунок 1).

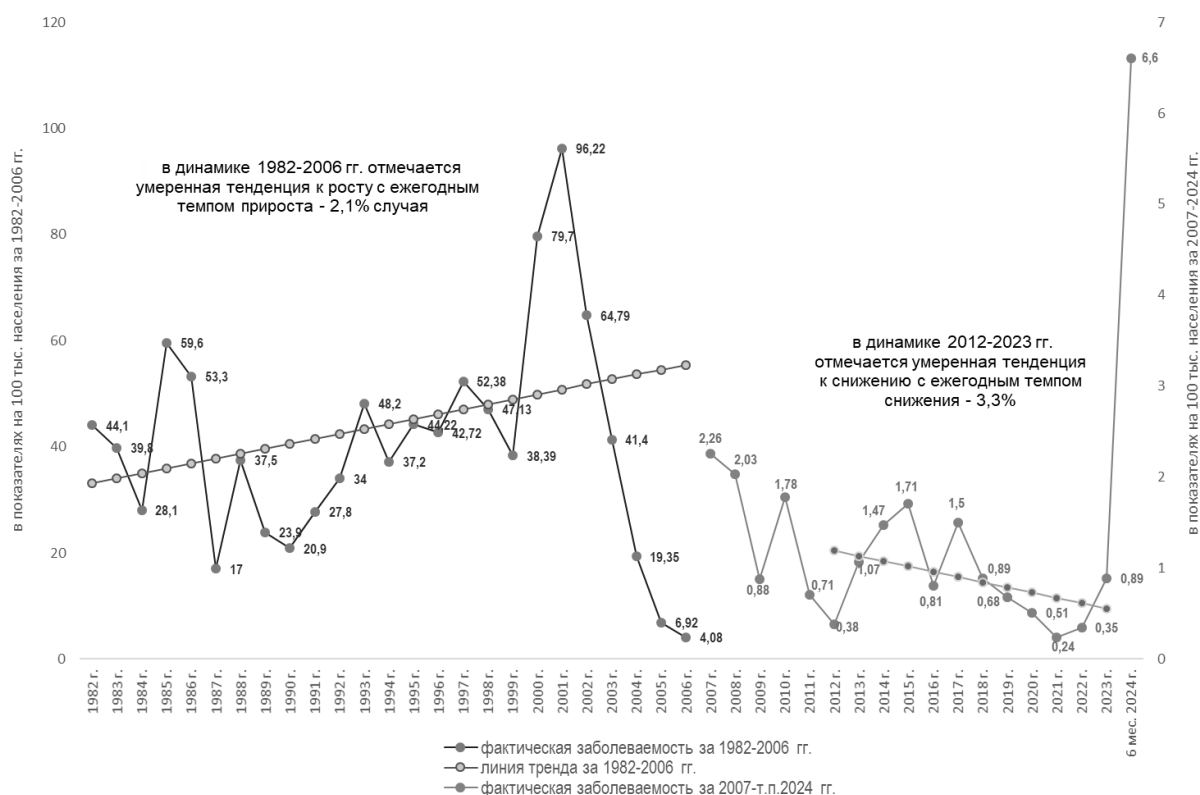


Рисунок 1 – Многолетняя динамика заболеваемости вирусным ГА в Республике Беларусь за период 1982–2023 гг. (в показателях на 100 тыс. населения)

По результатам проведенного эпидемиологического анализа 6 случаев (18,8 %) заражения ВГА в 2022 г. произошло за пределами Республики Беларусь (в 2021 г. – 7 случаев, или 31,8 % от общего числа) в период пребывания в других странах (Республике Таджикистан, Республике Шри-Ланка, Республике Индия, Арабской Республике Египет, Российской Федерации). Среди местных случаев в 26,9 % передача инфекции происходила по месту жительства пациентов, в 7,7 % – в прочих местах временного пребывания.

Согласно данным ретроспективного эпидемиологического анализа, в последние годы наиболее часто (28,1 %) заражение происходило через контаминированные продукты питания, реже инфекция реализовывалась контактно-бытовым (9,4 %) и водным (6,3 %) путями. В основном заболеваемость в Республике Беларусь носила спорадический характер. В 2023–2024 гг. были зарегистрированы эпизоды групповой заболеваемости.

2023 г. характеризовался невысоким общим уровнем заболеваемости вирусным ГА – 0,89 случая на 100 тыс. населения. Преобладали спорадические случаи среди населения возрастом от 18 до 59 лет (рисунок 2).

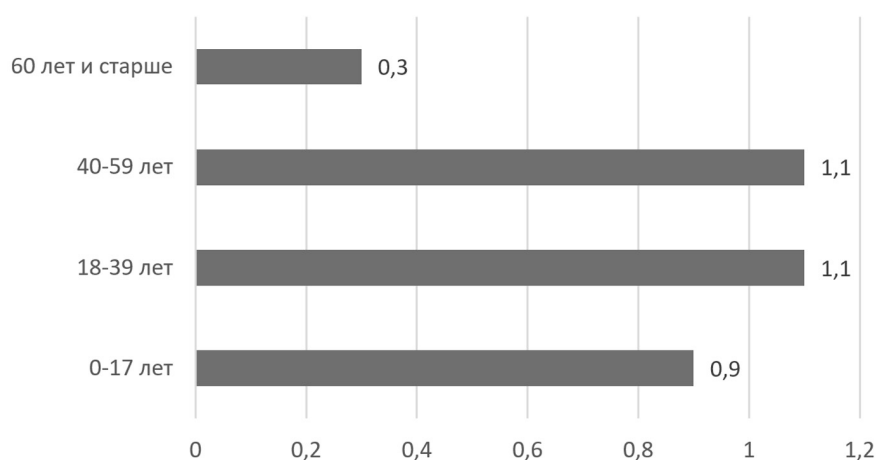


Рисунок 2 – Интенсивность (заболеваемость на 100 тыс. возрастной группы) вирусным ГА в возрастных группах

Эпизод групповой заболеваемости был отмечен в июле 2023 г., когда были госпитализированы пациенты с желтушной формой неуточненного вирусного гепатита (шифр В19). По результатам проведенной генодиагностики инфекции возбудителем оказался ВГА. Предполагаемым фактором его передачи была контаминированная пища, которую пациенты употребляли совместно. В рамках данного эпизода отмечен случай вторичного заражения от человека к человеку. Выполненное далее молекулярное типирование возбудителя позволило отнести его к субгенотипу IA. Геновариант, вызвавший эпизод групповой заболеваемости, имел эпидемиологическую связь с ВГА, которые явились причиной вспышки в Челябинске в январе 2023 г. Они составляли два связанных кластера и имели 99,8 % сходства между собой (рисунок 3).

С середины января 2024 г. во всех регионах республики имел место рост регистрации случаев вирусного ГА. Показатель заболеваемости по итогам 1-го полугодия 2024 г. в 14,6 раза превысил уровень заболеваемости за аналогичный период прошлого года (0,45 на 100 тыс. населения) и составил 6,66 случая на 100 тыс. населения. Месяцем максимальной регистрации случаев в этот период оказался февраль (60 случаев). С конца февраля наметилась тенденция к снижению частоты регистрации случаев. В настоящее время реализация инфекции осуществляется посредством контактно-бытового пути, в основном по месту жительства или занятости заболевших от установленных и неустановленных источников инфекции.

По временному и территориальному признакам распределение заболеваемости вирусным ГА осуществлялось неравномерно. Так, в Брестской, Гомельской областях и г. Минске определялся выраженный ее подъем практически в одинаковые сроки наблюдения (Брестская – 16.01–06.02; Гомельская – 19.01–14.02; Минск – 12.01–01.03). При этом в г. Минске он был наиболее выражен. В Могилевской и Витебской области в январе – феврале подъема заболеваемости не фиксировалось.

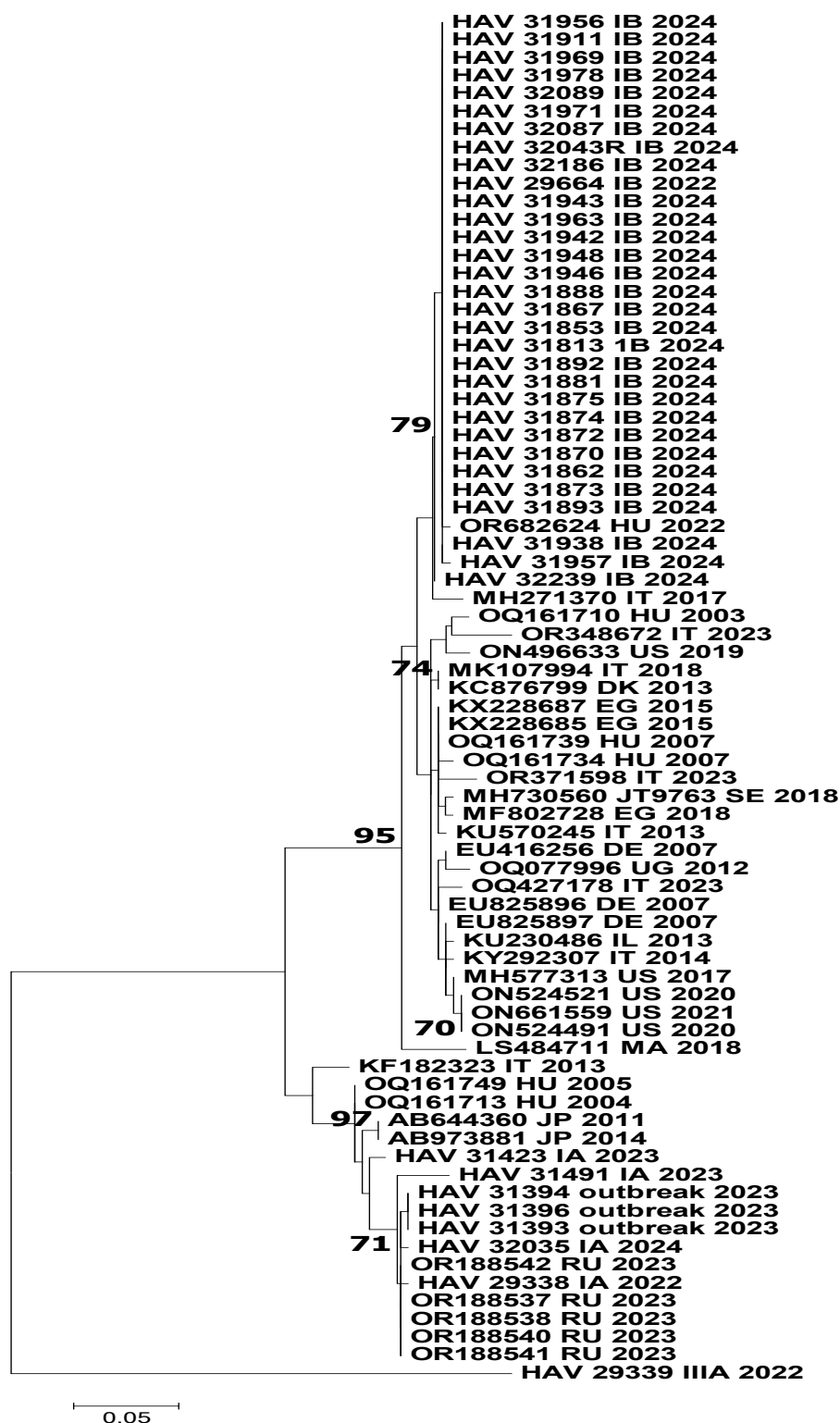


Рисунок 3 – Результат филогенетического анализа ВГА, идентифицированных в 2022–2024 гг. В анализе были использованы нуклеотидные последовательности фрагмента VP1-2A (292 нт) генома ВГА 40 штаммов, идентифицированных в Беларуси в 2022–2024 гг., и 36 штаммов, циркулировавших за рубежом. Реконструкцию осуществляли методом максимального правдоподобия на основе модели GTR. Представлено дерево с наивысшим логарифмическим правдоподобием (-1146,23). Процент деревьев, в которых связанные таксоны кластеризовались вместе, показан рядом с ветвями. Дискретное гамма-распределение использовалось для моделирования различий в скорости эволюции между сайтами (5 категорий (+G, параметр = 0,3727)). Шкала генетического расстояния представлена в углу, слева

По данным эпиданализа, вероятным фактором передачи инфекции в 2024 г. могла быть пищевая продукция, импортированная из стран Ближневосточного или Африканского регионов, реализуемая сетевыми объектами общественного питания и торговли в декабре 2023 г. – январе 2024 г.

В возрастной структуре заболевших в этот период превалировало активное и трудоспособное население 18–39 лет (45,3 %). Заболеваемость среди детей составила 26,5 %, в возрастной группе от 40 до 59 лет – 24,3 %, в группе «60 лет и старше» – около 4 %. При этом в структуре заболевших к июню 2024 г. несколько снизилось (до 37 %) участие возрастной группы «18–39 лет» и, напротив, вырос удельный вес детей школьного (27,8 %) и дошкольного (11,1 %) возрастов (рисунок 4).

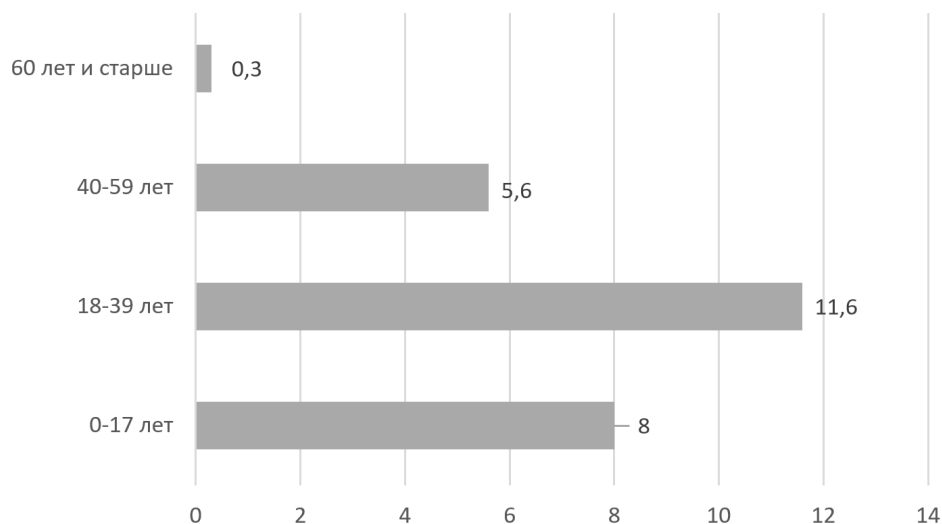


Рисунок 4 – Интенсивность (заболеваемость на 100 тыс. возрастной группы) вирусным ГА в возрастных группах за 6 месяцев 2024 г.

По данным молекулярного типирования возбудителя вирусного ГА, в 2024 г. им оказался субгенотип IV. Согласно имеющимся литературным данным, субгенотип IV наиболее часто встречается в странах Африки и Ближнего Востока. Однако в 2021–2022 гг. он вызвал значительное количество вспышек в Западной Европе, связанных с пищевым путем распространения [14]. Фактором передачи инфекции были замороженные ягоды. В Беларуси субгенотип IV регистрировался ранее однократно в 2022 г., но широкого распространения не имел. В 2024 г. субгенотип IV стал преобладающим на территории страны. Все вирусы, обнаруженные у пациентов из разных регионов в этот период, достоверно формировали единый кластер, что указывало на наличие эпидемической связи между отдельными случаями заболевания. Кроме того, в состав этого кластера вошел также изолят ВГА № 2861367 (код доступа OR682624), идентифицированный у пациента со спорадическим случаем вирусного ГА на территории Венгрии в 2022 г. ВГА того же субгенотипа IV, идентифицированные в других странах, в том числе в России (Рязань, 2022 г.), не образовывали связанные кластеры с «белорусскими» возбудителями, и следовательно, вызванные ими случаи заболевания не были эпидемически связаны (рисунок 3).

Заключение. Представленные результаты указывают на необходимость регулярного молекулярно-эпидемиологического мониторинга за вирусным ГА, актуальность которого очевидна в настоящее время на фоне непрекращающегося роста заболеваемости. Полученные данные о генотипическом пейзаже его возбудителя и появлении в 2023–2024 гг. нового для нашей страны субгенотипа IV представляют несомненный интерес для более глубокого понимания механизмов развития эпидпроцесса данной инфекции в современных условиях во времени и пространстве. Осуществление таких мониторинговых исследований не только среди населения, но и в отношении пищевой продукции и эпидемически значимых объектов окружающей среды, включая сточные воды, даст возможность получать оперативную информацию о заносе и распространении на территории страны ВГА с высоким эпидемическим потенциалом – как основу для установления путей и факторов передачи инфекции и прогнозирования возможных сценариев развития эпидситуации для принятия соответствующих профилактических мер.

Литература

1. Михайлов, М. И. Современная стратегия контроля вирусного гепатита А в Российской Федерации / М. И. Михайлов, К. К. Кюреган // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2021. – Т. 98, № 2. – С. 190–197.
2. Ongoing outbreak of hepatitis A associated with sexual transmission among men who have sex with men, Portugal, October 2023 to April 2024 / E. Rosendal, S. von Schreeb, A. Gomes [et al.] // Euro Surveill. – 2024. – Vol. 29, № 21. – P. 2400272. – DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2024.29.21.2400272.
3. ВОЗ бьет тревогу: вирусные гепатиты ежедневно уносят 3500 жизней // Всемирная организация здравоохранения. – URL: <https://www.who.int/ru/news/item/09-04-2024-who-sounds-alarm-on-viral-hepatitis-infections-claiming-3500-lives-each-day> (дата обращения: 03.10.2024).
4. Hepatitis A – Annual epidemiological report for 2018 : surveillance report / Eur. Centre for Dis. Prev. and Control. – Stockholm : ECDC; 2022. – 5 p. – (Annual epidemiological report).
5. Severe acute hepatitis of unknown origin in children – multicountry // World Health Organization. – URL: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON376> (date of access: 03.10.2024).
6. Hepatitis A occurrence and outbreaks in Europe over the past two decades: a systematic review / A. Andani, E. Bunge, G. Kassianos [et al.] // Journal of Viral Hepatitis. – 2023. – Vol. 30, № 6. – P. 497–511.
7. Communicable disease threats report, week 41, 8–14 October 2023 : weekly bulletin : surveillance report / Eur. Centre for Dis. Prev. and Control. – Solna : ECDC, 2023. – 13 p.
8. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2023 году : гос. докл. – М. : Федер. служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2023. – 368 с.
9. NCBI BLAST: a better web interface / M. Johnson, I. Zaretskaya, Y. Raytselis [et al.] // Nucleic Acids Research. – 2008. – Vol. 36. – P. W5–W9. – DOI: 10.1093/nar/gkn201.
10. Kumar, S. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets / S. Kumar, G. Stecher, K. Tamura // Molecular Biology and Evolution. – 2016. – Vol. 33, № 7. – P. 1870–1874.
11. Гланц, С. Анализ качественных признаков / С. Гланц // Медико-биологическая статистика / С. Гланц ; под ред. Н. Е. Бузикашвили, Д. В. Самойлова. – М., 1999. – Гл. 5. – С. 122–160. – URL: <https://www.medstatistic.ru/articles/glantz.pdf> (дата обращения: 18.07.2024).
12. Gatto, L. Assessing the applicability of the GTR nucleotide substitution model through simulations / L. Gatto, D. Catanzaro, M. C. Milinkovitch // Evolutionary Bioinformatics Online. – 2007. – Vol. 2. – P. 145–155.
13. Kaufmann, E. The success of linear bootstrapping models: decision domain-, expertise-, and criterion-specific meta-analysis / E. Kaufmann, W. W. Wittmann // PLoS One. – 2016. – Vol. 11, № 6. – P. e0157914. – DOI: 10.1371/journal.pone.0157914.
14. Spread of hepatitis A virus strains of genotype IB in several EU countries and the United Kingdom / Eur. Centre for Dis. Prev. and Control. – URL: <https://www.ecdc.europa.eu/en/news-events/spread-hepatitis-virus-strains-genotype-ib-several-eu-countries-and-united-kingdom> (дата обращения: 03.10.2024).

Amvrosieva T. V., Paklonskaya N. V., Kaltunova Yu. B., Dashkevich A. M., Zapolskaya V. V.

GROUP INCIDENCE OF VIRAL HEPATITIS A ON THE TERRITORY OF THE REPUBLIC OF BELARUS

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

For a long time, the incidence of viral hepatitis A (HAV) in the Republic of Belarus had been sporadic. However, in 2023, it began to increase with the group incidence being registered.

During the group incidence that took place in July 2023, RNA of the hepatitis A virus was detected in the biological material of all sick patients. Genotyping of the pathogen by the VP1-2A gene region made it possible to classify it as subgenotype IA. The conducted bioinformatics genomic analysis of «Belarusian» hepatitis A virus showed their high similarity (99.8 %) with those circulating in Russia and causing an outbreak of the disease in Chelyabinsk in 2023.

Since the beginning of 2024, the subgenotype IB has become the etiological factor of group incidence of HAV in the Republic of Belarus. All viruses detected in patients from different regions of the republic reliably formed a single cluster, which indicated the presence of an epidemic link between them. Based on phylogenetic reconstruction, it was found that IB hepatitis A virus identified in other countries, including Russia (Ryazan, 2022), did not form common clusters with the «Belarusian» subgenotype.

Keywords: group incidence, viral hepatitis A, subgenotype, phylogenetic analysis.

References

1. Mikhailov M. I., Kyuregyan K. K. Contemporary strategy to control viral hepatitis A in the Russian Federation. *J Microbiol Epidemiol Immunobiol.* 2021; 98(2): 190–7. (in Russian)
2. Rosendal E., S. von Schreeb, A. Gomes et al. Ongoing outbreak of hepatitis A associated with sexual transmission among men who have sex with men, Portugal, October 2023 to April 2024. *Euro Surveill.* 2024; 29(21): 2400272. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2024.29.21.2400272.
3. WHO sounds the alarm: viral hepatitis claims 3,500 lives every day. Available at: <https://www.who.int/news/item/09-04-2024-who-sounds-alarm-on-viral-hepatitis-infections-claiming-3500-lives-each-day> (accessed 3 October 2024).
4. Hepatitis A – Annual epidemiological report for 2018: surveillance report. Stockholm: ECDC; 2022.
5. Severe acute hepatitis of unknown origin in children – multicountry. Available at: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON376> (accessed 3 October 2024).
6. Andani A., Bunge E., Kassianos G. et al. Hepatitis A occurrence and outbreaks in Europe over the past two decades: a systematic review. *J Viral Hepat.* 2023; 30(6): 497–511.
7. Communicable disease threats report, week 41, 8–14 October 2023: weekly bulletin: surveillance report. Solna: ECDC; 2023.
8. On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2023: gos. dokl. Moscow: Feder. sluzhba po nadzoru v sfere zashchity prav potrebitelej i blagopoluchiya cheloveka; 2023. (in Russian)
9. Johnson M., Zaretskaya I., Raytselis Y. et al. NCBI BLAST: a better web interface. *Nucleic Acids Res.* 2008; 36: W5–W9. DOI: 10.1093/nar/gkn201.
10. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol Biol Evol.* 2016; 33(7): 1870–4.
11. Glantz S. Analysis of qualitative features In: Glantz S. Primer of biostatistics. Moscow; 1999. Chap. 5: 122–60. Available at: <https://www.medstatistic.ru/articles/glantz.pdf> (accessed 18 2024). (in Russian)
12. Gatto L., Catanzaro D., Milinkovitch M. C. Assessing the applicability of the GTR nucleotide substitution model through simulations. *Evol Bioinform Online.* 2007; 2: 145–55.
13. Kaufmann E., Wittmann W. The success of linear bootstrapping models: decision domain-, expertise-, and criterion-specific meta-analysis. *PLoS One.* 2016; 11(6): e0157914. DOI: 10.1371/journal.pone.0157914.
14. Spread of hepatitis A virus strains of genotype IB in several EU countries and the United Kingdom. Available at: <https://www.ecdc.europa.eu/en/news-events/spread-hepatitis-virus-strains-genotype-ib-several-eu-countries-and-united-kingdom> (accessed 03 October 2024).

e-mail для переписки: labsanvir@gmail.com

Поступила 07.10.2024

УДК 616.921.5-085.371-036.8(476)

Аношко О. Н., Лапо Т. П., Савинова О. В., Сивец Н. В., Шмелева Н. П.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ СЕЗОННОГО ГРИППА В ПЕРИОДЫ ЭПИДЕМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЯ В 2021–2024 ГГ. В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии
и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Вакцина от гриппа является общепризнанным средством для предупреждения развития гриппозной инфекции, а исследования по оценке эффективности вакцинации от гриппа необходимы для понимания того, насколько хорошо имеющиеся иммунобиологические средства защищают от циркулирующих штаммов в реальных условиях. В статье представлена информация об оценке эффективности гриппозных вакцин (далее – ЭГВ) в период активной циркуляции возбудителя в эпидемические сезоны 2021–2022, 2022–2023, 2023–2024 гг. Показатель общей ЭГВ в предупреждении случаев гриппа в разные сезоны составил от 33,8 % до 78,1 %. Кроме того, с использованием метода

«случай – контроль» с отрицательным результатом теста (TND) также проведена скорректированная оценка ЭГВ в зависимости от тяжести течения гриппа. Используемые вакцины против гриппа показали высокие результаты в плане профилактики симптоматического и тяжелого течения заболевания, а также госпитализации.

Ключевые слова: грипп, эффективность гриппозных вакцин, исследование «случай-контроль», период эпидемического неблагополучия.

Введение. Несмотря на достигнутые успехи современной медицины, инфекционные болезни продолжают вносить значительный вклад в структуру общей заболеваемости населения в глобальном масштабе. Так, по статистике ВОЗ, острые инфекции нижних дыхательных путей являются второй наиболее распространенной причиной заболеваемости и четвертой ведущей причиной смертности среди лиц различных возрастных групп. На данный момент насчитывается более 200 инфекционных патогенов, способных вызвать респираторные заболевания, и вирус гриппа занимает лидирующую позицию среди возбудителей массовых эпидемий и пандемий на протяжении последних нескольких столетий [1].

Имеются основания полагать, что грипп появился среди людей около 6000 лет назад, а описываемые Гиппократом в 412 г. до н. э. симптомы болезни аналогичны симптомам гриппа [2, 3]. Однако сам вирус гриппа типа «А» у человека удалось выделить лишь в 1933 г. британскими вирусологами У. Смитом, К. Эндрюсом и П. Лейдлоу, а тремя годами позже Т. Френсис-мл. выделил вирус гриппа В. Серия исследований, проведенных советскими и зарубежными учеными в последующие годы, позволила получить основополагающее представление об эпидемиологии гриппа. Результаты исследований широко использовались для обоснования вакцинопрофилактики гриппа, т. к. вакцинация – это наиболее безопасное и эффективное средство снижения не только числа случаев заболевания, но и связанных с ними осложнениями [4–6].

Наиболее подверженными к повышенному риску осложнений и летальности, связанных с гриппом, являются пожилые люди старше 65 лет, дети в возрасте от 6 месяцев до 5 лет, беременные женщины на любом сроке беременности, лица с хроническими заболеваниями, лица с иммунодефицитным состоянием, а также работники здравоохранения. Согласно критериям ВОЗ, порог коллективного иммунитета должен составлять 33–44 %, а рекомендуемый охват вакцинацией для групп риска не менее 75 % [7–9].

Через некоторое время после вакцинации иммунитет ослабевает, поэтому для более надежной защиты населения от гриппа рекомендуется проводить ежегодную иммунизацию. Кроме того, существует необходимость постоянного обновления штаммового состава вакцин, т. к. вирус гриппа обладает высокой антигенной изменчивостью. Дважды в год эксперты ВОЗ дают рекомендации по актуальным компонентам вакцины на предстоящий сезон для Северного и Южного полушария (в феврале и сентябре соответственно). Выбор основывается в том числе и на результатах оценки полевой эффективности гриппозных вакцин. Мониторинг ЭГВ дает полезную информацию о вероятном ослаблении эффекта вакцины и об эффективности против новых вариантов возбудителя. Однако даже в случае соответствия штаммового состава вакцины с циркулирующими вирусами гриппа, ЭГВ составляет от 40 до 60 %, что ниже, чем для большинства лицензированных вакцин против других инфекций [10].

Во многих странах мира для оценки эффективности противогриппозных вакцин используется метод «случай-контроль» с отрицательным результатом теста (TND), который в последние годы применяется как наиболее действенный и содержащий наименьшее количество ошибок способ исследования эффективности вакцинации против тяжелого и симптоматического гриппа [11]. Так, в 2003 г. в США для мониторинга ЭГВ под эгидой CDC создана сеть US Flu VE Network, а в 2007 г. в Европейском союзе и Европейской экономической зоне была создана сеть I-MOVE (Integrated Monitoring of Vaccines in Europe), основанная на сетях дозорного эпиднадзора [12, 13].

В Республике Беларусь эпидемиологическое слежение за вирусами гриппа и другими возбудителями ОРВИ осуществляется круглогодично, а вакцинация против гриппа с 2012 г. внесена в Национальный календарь профилактических прививок. Активная ежегодная кампания вакцинопрофилактики гриппа способствует значительному снижению заболеваемости в стране, а хорошая переносимость, безопасность и эффективность вакцин подтверждена многочисленными исследованиями [14].

В наблюдаемые эпидемические сезоны 2021–2022, 2022–2023 и 2023–2024 гг. в стране были зарегистрированы и применялись трех- и четырехвалентные инактивированные гриппозные вакцины: «Вакцина для профилактики гриппа» (Россия), «Гриппол Плюс» (Россия), «Ваксигрип Тетра» (Франция) и «Инфлювак Тетра» (Нидерланды) [15].

Оценка ЭГВ проводится в рамках НИР «Разработать метод оценки возможности заболевания гриппом и COVID-19 и определить профилактическую эффективность вакцин, используемых для массовой

вакцинопрофилактики гриппа и COVID-19 в Республике Беларусь» с 2022 г. Изучение ЭГВ в рамках дозорного эпидемиологического надзора представляет собой как научный, так и практический интерес, который может быть реализован в качестве своевременного принятия решений по выполнению санитарно-противоэпидемических мероприятий.

Цель работы – определение эффективности иммунизации против гриппа в Республике Беларусь в 2021–2024 гг.

Материалы и методы. При обработке данных, необходимых для оценки ЭГВ в Республике Беларусь, в максимально возможной степени была задействована система дозорного эпиднадзора за гриппом и ОРВИ. Для проведения оценки ЭГВ соблюдались следующие критерии: лабораторное подтверждение гриппозной инфекции молекулярно-биологическим методом; включение в исследование лиц, принадлежащих к целевым группам по вакцинации с указанием точного вакцинального статуса пациентов на основании сопроводительной документации. Кроме того, в исследование включались пациенты, у которых заболевание началось в течение предыдущих 7 календарных дней. Расчет ЭГВ проводили в период эпидемической активности вирусов гриппа.

Метод ПЦР в режиме реального времени являлся ключевым методом выявления генетического материала респираторных возбудителей (вирусов гриппа А и В, SARS-CoV-2 и других негриппозных патогенов: РС-вируса, метапневмовируса, вирусов парагриппа 1–4 типов, риновируса, аденовируса, бокавируса, респираторных коронавирусов 229E, NL63, BetaCoV1, HКУ1, микоплазмы и хламидофилы пневмонии) из биологического материала (мазки из носа и зева), забранного у лиц всех возрастов с клиническими проявлениями респираторных инфекций. Общее количество образцов, исследованных в период с 40 к. н. 2021 г. по 20 к. н. 2024 г., составило 25 727 образцов. В период активной циркуляции вирусов гриппа число положительных находок, содержащих РНК возбудителя, и общее число исследованных образцов составило 103 из 663 образцов – в 2021–2022 гг., 496 из 1699 – в 2022–2023 гг. и 531 из 2219 образцов – в 2023–2024 гг. соответственно.

Таким образом, материалом для оценки ЭГВ выступили результаты ПЦР-тестирования назофарингеальных мазков, а также сопроводительная документация о пациентах со случаями острой респираторной инфекции (далее – ОРИ), гриппоподобного заболевания (далее – ГПЗ) и тяжелой острой респираторной инфекции (далее – ТОРИ) с указанием точного вакцинального статуса пациентов.

Исследование эффективности вакцинации проводили методом «случай-контроль», с отрицательным результатом теста (TND). Дизайн исследования включал формирование основной группы и группы сравнения согласно результатам лабораторных исследований. Далее группы делили по факту наличия или отсутствия вакцинации у пациентов и определяли отношение шансов (далее – ОШ), на основании которых делали вывод о наличии связи между вакцинальным статусом (фактором) и ПЦР-детекцией возбудителя (исходом). Показатель ОШ = 1 указывал на отсутствие связи между вакцинацией и лабораторно подтвержденным случаем заболевания; ОШ > 1 – на потенциальный фактор риска (увеличение числа положительных ПЦР-результатов у невакцинированных); ОШ < 1 – на потенциальное защитное действие вакцинации. Расчет доверительного интервала (далее – ДИ) ОШ позволял определить статистическую значимость показателя. Если оба значения границ ДИ ОШ были ниже 1, то делали вывод о статистической значимости выявленной связи между фактором и исходом. Далее в исследовании проводили расчет ЭГВ по формуле (1), изложенной в руководстве Центра по контролю заболеваемости и использованной Европейской группой по оценке ЭГВ в странах Европейского союза по программе I-MOVE:

$$\text{ЭГВ} = (1 - \text{ОШ}) \times 100 \%, \quad (1)$$

где ЭГВ – эффективность гриппозных вакцин, %;
ОШ – отношение шансов [13].

Кроме того, определяли ЭГВ как величину, находящуюся внутри 95% ДИ, ширина которой определялась допущениями. Так, нижняя граница интервала для оценки эффективности обозначалась как минимальная, а верхняя – как максимальная. Если ДИ включал ноль и отрицательные значения, то предоставленная точечная оценка ЭГВ считалась статистически не значимой [13, 16].

Для анализа динамики заболеваемости ОРИ в Республике Беларусь применяли данные автоматизированной информационной системы (далее – АИС) «Заболеваемость ОРИ» [17]. Статистическую обработку и графическую визуализацию данных проводили с помощью MEDSTATISTIC.RU и Microsoft Excel 2016.

Результаты и их обсуждение. В Республике Беларусь сезон заболеваемости ОРВИ начинается на 40-й неделе текущего года и продолжается по 20-ю неделю следующего года, и несмотря на то что за пределами сезона активность гриппа незначительна или отсутствует, мониторинг за вирусами гриппа и другими возбудителями ОРВИ, а с 2020 г. и за вирусом SARS-CoV-2 осуществляется круглогодично.

Так, в эпидемические сезоны 2021–2022, 2022–2023, 2023–2024 гг. на территории страны наблюдались несколько подъемов заболеваемости ОРВИ, связанных с поочередной циркуляцией вирусов гриппа, SARS-CoV-2 и других респираторных патогенов (рисунок 1).

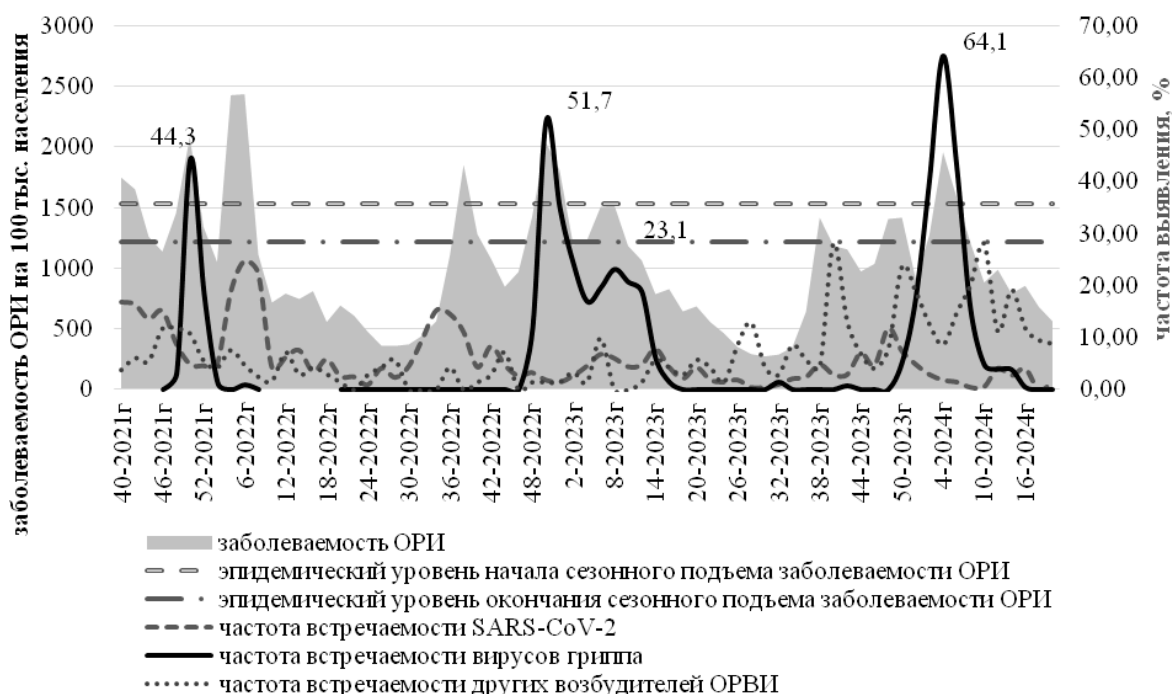


Рисунок 1 – Динамика частоты выявления вирусов гриппа, SARS-CoV-2 и других возбудителей ОРВИ в эпидемические сезоны 2021–2022, 2022–2023, 2023–2024 гг.

Эпидемический сезон 2021–2022 гг. ознаменовался возвращением в активную сезонную циркуляцию вирусов гриппа после отсутствия лабораторно подтвержденных случаев заболевания в предыдущий сезон 2020–2021 гг. [18]. Осенний подъем заболеваемости ОРВИ, связанный с гриппом, начался на 47 к. н. 2021 г., когда уже наблюдалось превышение эпидемического порога. Максимальные показатели заболеваемости пришлись на 49–51 к. н., а частота встречаемости вирусов гриппа достигла самых высоких значений на 1 к. н., составив 44,3 %. Длительность первого периода, который был значим для исследования ЭГВ, составила 6 недель.

В эпидемический сезон 2022–2023 гг. первые в стране случаи выявления вирусов гриппа стали регистрировать на 46 к. н. 2022 г. и носили спорадический характер. Но уже с 48 к. н. 2022 г. частота выявления генетического материала респираторного патогена в дозорных образцах превышала 10 %, что свидетельствовало об эпидемическом распространении возбудителя и стало причиной подъема заболеваемости ОРВИ. Таким образом, период эпидемического неблагополучия, ассоциированный с распространением вируса гриппа, длился до 12 к. н. 2023 года, став самым продолжительным за три наблюдаемых эпидсезона.

Анализ данных АИС «Заболеваемость ОРВИ» и результатов дозорного надзора показал эпидемический рост респираторной заболеваемости в межэпидемический период 2023 г. Подъем был связан с увеличением частоты встречаемости респираторных патогенов негриппозной этиологии. Первые случаи выявления вируса гриппа стали регистрироваться начиная с 47 к. н. 2023 г., достигнув пикового значения на 4 к. н. 2024 г. – 64,1 %. Период эпидемического неблагополучия, связанный с гриппом, длился 13 недель.

В итоге наблюдалось три периода неблагополучия, связанных с гриппом (47 к. н. 2021 г. – 1 к. н. 2022 г., 48 к. н. 2022 г. – 12 к. н. 2023 г. и 49 к. н. 2023 г. – 9 к. н. 2024 г.), которые были значимы для исследования ЭГВ (таблица 1).

Таблица 1 – Оценка общей эффективности гриппозных вакцин

Период эпидемического неблагополучия	Число вакц. / число обслед.	Группы				ОШ ad / bc	ЭГВ, % в формуле (1)
		вакц.		невакц.			
		(+) a ¹⁾	(-) b ²⁾	(+) c ³⁾	(-) d ⁴⁾		
47 к. н. 2021 г. – 1 к. н. 2022 г.	25 / 663	1	24	102	536	0,218 (95% ДИ: 0,03–1,59)	78,1 (95% ДИ: -59–97)
48 к. н. 2022 г. – 12 к. н. 2023 г.	58 / 1699	9	49	487	1 154	0,435 (95% ДИ: 0,22–0,88)	56,5 (95% ДИ: 12–78)
49 к. н. 2023 г. – 9 к. н. 2024 г.	103 / 2219	18	85	513	1 603	0,662 (95% ДИ: 0,04–1,09)	33,8 (95% ДИ: -9–60)
¹⁾ а – количество случаев заболевания у вакцинированных лиц с лабораторно подтвержденным результатом; ²⁾ b – количество случаев заболевания у вакцинированных лиц с отрицательным результатом; ³⁾ с – количество случаев заболевания у невакцинированных лиц с лабораторно подтвержденным результатом; ⁴⁾ d – количество случаев заболевания у невакцинированных лиц с отрицательным результатом. Примечания: 1) ОШ – отношение шансов; 2) ЭГВ – эффективность гриппозных вакцин; 3) к. н. – календарная неделя.							

На протяжении всех периодов количество вакцинированных лиц от числа обследованных не превышало 4,6 %. А частота выявления генетического материала вирусов гриппа варьировала от 15,5 до 29,2 %. Расчет ОШ в анализируемые периоды составил 0,218 (95% ДИ: 0,03–1,59), 0,435 (95% ДИ: 0,22–0,88) и 0,662 (95% ДИ: 0,04–1,09), где все значения ОШ < 1, что указывало на потенциальное защитное действие вакцинации. Несмотря на то что статистически значимые данные по ДИ ОШ наблюдались только в период с 48 к. н. 2022 г. по 12 к. н. 2023 г., оценка ЭГВ проводилась для всех периодов наблюдения, согласно формуле 1, представленной I-MOVE. Расчет ДИ ЭГВ зависел от данных ДИ ОШ и отражал диапазон, в котором могли находиться реальные значения ЭГВ.

Наибольший показатель общей ЭГВ в предупреждении случаев гриппа был отмечен в сезон 2021–2022 гг. и составил 78,1 % (95% ДИ: -59–97), однако стоит учесть, что данный сезон был первым после возвращения гриппа в сезонную циркуляцию и довольно непродолжительным по времени, т. к. новый вариант коронавируса SARS-CoV-2 «Омикрон» благодаря своему стремительному распространению в начале 2022 г. вновь вытеснил вирус гриппа из активной циркуляции (рисунок 1). При этом, несмотря на потенциальное защитное действие вакцинации, статистическая обработка данных показала широкий диапазон значений верхней и нижней границы 95% ДИ, включающий отрицательные значения нижней границы, что может указывать на статистически не значимую оценку ЭГВ.

Кроме того, представляла интерес скорректированная оценка ЭГВ в зависимости от тяжести течения гриппа (таблица 2).

Таблица 2 – Оценка ЭГВ применительно к категориям ОРИ

Период эпидемического неблагополучия	Категория ОРИ	Число вакц. / число обслед.	Группы				ОШ ad / bc	ЭГВ, % в формуле (1)
			вакц.		невакц.			
			(+) a ¹⁾	(-) b ²⁾	(+) c ³⁾	(-) d ⁴⁾		
47 к. н. 2021 г. – 1 к. н. 2022 г.	ОРИ	18 / 302	1	17	55	229	0,245 (95% ДИ: 0,03–1,82)	75,5 (95% ДИ: -82–97)
	ГПЗ + ТОРИ	7 / 361	0	7	47	307	0	–
48 к. н. 2022 г. – 12 к. н. 2023 г.	ОРИ	41 / 847	5	36	265	541	0,284 (95% ДИ: 0,11–0,71)	71,6 (95% ДИ: 29–89)
	ГПЗ + ТОРИ	17 / 852	4	13	222	613	0,849 (95% ДИ: 0,28–2,58)	15,1 (95% ДИ: -158–72)
49 к. н. 2023 г. – 9 к. н. 2024 г.	ОРИ	61 / 1242	14	47	336	845	0,749 (95% ДИ: 0,42–1,34)	25,1 (95% ДИ: -34–58)
	ГПЗ + ТОРИ	42 / 977	4	38	177	758	0,451 (95% ДИ: 0,16–1,25)	54,9 (95% ДИ: -25–84)
Примечание – см. в таблицу 1.								

Проведенные исследования оценки ЭГВ по отношению к легким формам заболевания показали высокий уровень защиты как в 2021–2022 гг., так и в 2022–2023 гг.: 75,5 % (95% ДИ: –82–97) и 71,6 % (95% ДИ: 29–89) соответственно. Однако стоит учитывать, что отрицательное значение нижней границы 95% ДИ в 2021–2022 гг. указывают на статистически незначимую оценку ЭГВ, что может быть связано с коротким периодом активной циркуляции вирусов гриппа в данный период. Оценить ЭГВ в эпидсезон 2021–2022 гг. применительно к тяжелым случаям заболевания из категории ГПЗ и ТОРИ не было возможности в связи с отсутствием лабораторно подтвержденных случаев гриппа среди вакцинированных в основной группе. Однако в эпидсезон 2022–2023 гг. данный показатель ЭГВ в плане профилактики тяжелых случаев заболевания составил 15,1 % (95% ДИ: –158–72). Отрицательное значение нижней границы 95% ДИ может означать отсутствие эффекта вакцинации. Кроме того, в период эпидемического неблагополучия в 2023–2024 гг. вакцинация была эффективнее против тяжелых форм заболевания – 54,9 % (95% ДИ: –25–84), чем против заболеваний в категории ОРИ – 25,1 % (95% ДИ: –34–58).

Полученные нами данные совпадают с результатами оценки эффективности гриппозных вакцин в Глобальном масштабе. Представленные оценки ЭВГ в зарубежных литературных источниках варьируют в зависимости от сезона и зависят от того, насколько вакцины соответствуют циркулирующим в настоящее время штаммам гриппа. Начиная с 2003–2004 гг. CDC проводит исследования ЭВГ каждый эпидемический сезон. Данные исследования помогают регулярно оценивать ценность вакцинации против гриппа как меры общественного здравоохранения. Оценки ЭВГ, отображенные на рисунке 2, предоставлены CDC сетью US Flu VE Network [10].

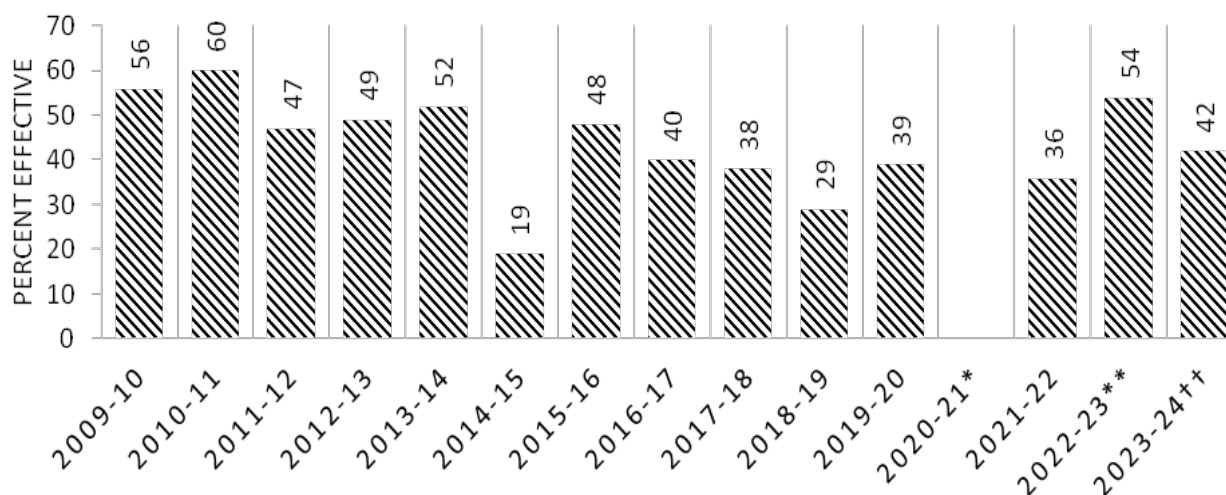


Рисунок 2 – Общие оценки эффективности вакцин для сезонов гриппа с 2009–2010 гг. по 2023–2024 гг.

Показатель общей ЭГВ в США варьировал от 19 до 60 %. В эпидемическом сезоне 2020–2021 гг. оценить ЭГВ было невозможно из-за временного вытеснения новым коронавирусом вирусов гриппа во время начала пандемии COVID-19 и связанных с ней ограничений, однако после возвращения в сезонную циркуляцию вирусов гриппа в сезон 2021–2022 гг. ЭГВ составила 36 %.

Схожие результаты продемонстрировала Европейская сеть I-MOVE в 2021–2022 гг., когда ЭГВ составила 36 % (95 % ДИ: 13–53) [12]. А во время эпидемического сезона 2023–2024 гг. до 53 % и 44 % вакцинированных лиц в учреждениях первичной медико-санитарной помощи и больницах соответственно были защищены от легкой и тяжелой формы гриппа [19].

Заключение. За анализируемый период наблюдалось три периода неблагополучия, связанных с гриппом, которые были значимы для исследования ЭГВ. На протяжении трех сезонов суммарный показатель ЭГВ указывал на потенциальное защитное действие вакцинации. Наибольшая ЭГВ в предупреждении случаев гриппа наблюдалась в первый сезон, после возвращения вируса гриппа в сезонную циркуляцию в 2021–2022 гг., составив 78,1 % (95% ДИ: –59–97). Используемые противогриппозные вакцины демонстрировали эффективность вакцинации в плане профилактики симптоматического течения заболевания как в 2021–2022 гг., так и в 2022–2023 гг.: 75,5 % (95% ДИ: –82–97) и 71,6 % (95% ДИ: 29–89) соответственно. Однако в период эпидемического неблагополучия в 2023–2024 гг. вакцинация была эффективнее против тяжелых форм заболевания – 54,9 % (95% ДИ: –25–84). Согласно полученным данным

за 3 эпидемических сезона (2021–2022, 2022–2023, 2023–2024 гг.) показатель общей ЭВ в Республике Беларусь варьировал от 33,8 % до 78,1 %, что согласуется с мировыми данными.

Сведения о НИР. НИР «Разработать метод оценки возможности заболевания гриппом и COVID-19 и определить профилактическую эффективность вакцин, используемых для массовой вакцинопрофилактики гриппа и COVID-19 в Республике Беларусь», регистрационный номер 20221507.

Литература

1. ВОЗ публикует статистику о ведущих причинах смертности и инвалидности во всем мире за период 2000–2019 гг. // Всемирная организация здравоохранения. – URL: <https://www.who.int/ru/news/item/09-12-2020-who-reveals-leading-causes-of-death-and-disability-worldwide-2000-2019> (дата обращения: 20.09.2024).

2. Широких, К. Е. История эпидемий гриппа / К. Е. Широких, О. И. Мазурок // Медицинские технологии. Оценка и выбор. – 2015. – № 3. – С. 73–77.

3. Киселев, О. И. Пандемии начала XXI века. Грипп птиц и пандемия «свиного» гриппа H1N1 2009 года / О. И. Киселев. – СПб.: Фолиант, 2016. – 368 с.

4. Вакцины и иммунизация: что такое вакцинация? // Всемирная организация здравоохранения. – URL: <https://www.who.int/ru/news-room/questions-and-answers/item/vaccines-and-immunization-what-is-vaccination> (дата обращения: 20.09.2024).

5. Horby P. W. Community studies of influenza: new knowledge, new questions / P. W. Horby // *The Lancet. Respiratory medicine*. – 2014. – Vol. 2, № 6. – P. 430–431.

6. Как возник ВНИИ гриппа АМН СССР // Научно-исследовательский институт гриппа им. А. А. Смородинцева. – URL: <https://www.influenza.spb.ru/files/24.05.18-Smorodintsev-kak-voznik-nii-grippa.pdf> (дата обращения: 20.09.2024).

7. Vaccination / S. Vanderslott, S. Dattani, F. Spooner, M. Roser // *Our World in Data*. – URL: <https://ourworldindata.org/vaccination#vaccines-save-lives> (date of access: 20.09.2024).

8. Efficacy of influenza vaccine in nursing homes. Reduction in illness and complications during an influenza A (H3N2) epidemic / P. A. Patriarca, J. A. Weber, R. A. Parker [et al.] // *JAMA*. – 1985. – Vol. 253, № 8. – P. 1136–1139.

9. Грипп (сезонный) // Всемирная организация здравоохранения. – URL: [https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal)) (дата обращения: 20.09.2024).

10. Influenza (Flu) // CDC. – URL: <https://www.cdc.gov/flu/index.html> (date of access: 20.09.2024).

11. Evaluation of influenza vaccine effectiveness: a guide to the design and interpretation of observational studies : guidance (normative). – Geneva : WHO, 2017. – 56 p.

12. US Flu VE Network // CDC. – URL: https://www.cdc.gov/flu-vaccines-work/?CDC_AAref_Val=https://www.cdc.gov/flu/vaccines-work/us-flu-ve-network.html (date of access: 20.09.2024).

13. I-MOVE. Influenza – monitoring vaccine effectiveness in Europe : [website]. – 2020. – URL: <https://www.imoveflu.org> (date of access: 20.09.2024).

14. В Республике Беларусь будут применять вакцину от гриппа СПбНИИВС // СПбНИИВС. – URL: <https://spbniivs.ru/press-center/news/v-respublike-belarus-budut-primenyat-vaktsinu-ot-grippa-spbniivs>. (дата обращения: 20.09.2024).

15. Министерство здравоохранения Республики Беларусь : [сайт]. – Минск, 2017–2024. – URL: <https://minzdrav.gov.by>. (дата обращения: 20.09.2024).

16. Гржибовский, А. М. Исследования типа «случай-контроль» в здравоохранении / А. М. Гржибовский, С. В. Иванов, М. А. Горбатова // *Наука и Здравоохранение*. – 2015. – № 4. – С. 5–17.

17. АИС «Заболееваемость ОРВИ» : [база данных]. – Минск, 2011–2024. – URL: <http://gripp.belcmt.by/Forms/index.php>. (дата обращения: 20.09.2024).

18. Дозорное эпидемиологическое слежение за гриппом и инфекцией COVID-19 в Республике Беларусь в 2019–2022 гг. / О. Н. Аношко, Т. П. Лапо, Е. Н. Кищенко, Н. П. Шмелева // *Вирусные инфекции – от диагностики к клинике : сб. тез. Всерос. конф. молодых ученых, посвящ. 55-летию со дня основания НИИ гриппа им. А. А. Смородинцева, Санкт-Петербург, 15 апр. 2022 г.* / Науч.-исслед. ин-т гриппа им. А. А. Смородинцева, М-во здравоохранения Рос. Федерации. – СПб., 2022. – С. 10–11.

19. Interim 2023/24 influenza A vaccine effectiveness: VEBIS European primary care and hospital multicentre studies, September 2023 to January 2024 / M. Maurel, J. Howard, E. Kissling [et al.] // *Euro surveillance : bulletin Européen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*. – 2024. – Vol. 29, № 8. – DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2024.29.8.2400089.

SEASONAL FLU VACCINE EFFECTIVENESS DURING PERIODS OF PATHOGEN EPIDEMIC ACTIVITY IN 2021–2024 IN THE REPUBLIC OF BELARUS

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

An influenza vaccine refers to a generally accepted preventive measure against influenza illnesses; and studies of influenza vaccine effectiveness are necessary to understand how well flu vaccines work in real-world conditions against circulating strains. The article provides information about assessing the influenza vaccine effectiveness (IVE) during the period of active circulation of the pathogen data for the 2021–2022, 2022–2023, 2023–2024 epidemic seasons. The overall IVE in preventing cases of influenza in different seasons ranged from 33.8 % to 78.1 %. In addition, the adjusted IVE was also performed using a test-negative (TND) case-control design. The influenza vaccines have shown high results against symptomatic and severe disease, as well hospitalization.

Keywords: influenza, flu vaccine effectiveness, «case-control» study, period of epidemic trouble.

References

1. WHO reveals leading causes of death and disability worldwide: 2000–2019. In: WHO. Available at: <https://www.who.int/ru/news/item/09-12-2020-who-reveals-leading-causes-of-death-and-disability-worldwide-2000-2019> (accessed 20 September 2024).
2. Shirokikh K. E., Mazurok O. I. History of influenza epidemics. *Med Technol Assess Choice*. 2015; 3(21): 73–7 p. (in Russian)
3. Kiselev O. I. *Pandemics of the early 21st century. Avian influenza and the 2009 H1N1 swine flu pandemic*. SPb: Foliant, 2016. (in Russian)
4. Vaccines and immunization: What is vaccination? In: WHO. Available at: <https://www.who.int/ru/news-room/questions-and-answers/item/vaccines-and-immunization-what-is-vaccination> (accessed 20 September 2024).
5. Horby P. W. Community studies of influenza: new knowledge, new questions. *Lancet Respir Med*. 2014; 2(6): 430–1.
6. Kak voznik VNII grippa AMN SSSR. In: *Nil grippa im. A.A. Smorodinceva*. Available at: <https://www.influenza.spb.ru/files/24.05.18-Smorodintsev-kak-voznik-nii-grippa.pdf> (accessed 20 September 2024). (in Russian)
7. Vanderslott S., Dattani S., Spooner F., Roser M. Vaccination. In: *Our World in Data*. Available at: <https://ourworldindata.org/vaccination#vaccines-save-lives> (accessed 20 September 2024).
8. Patriarca P. A., Weber J. A., Parker R. A. et al. Efficacy of influenza vaccine in nursing homes. Reduction in illness and complications during an influenza A (H3N2) epidemic. *JAMA*. 1985; 253(8): 1136–9.
9. Influenza (Seasonal). In: WHO. Available at: [https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal)) (accessed 20 September 2024).
10. Influenza (Flu). In: CDC. Available at: <https://www.cdc.gov/flu/index.html>. (accessed 20 September 2024).
11. Evaluation of influenza vaccine effectiveness: a guide to the design and interpretation of observational studies: guidance (normative). Geneva: WHO; 2017.
12. US Flu VE Network. In: CDC. Available at: https://www.cdc.gov/flu-vaccines-work/?CDC_AAref_Val=https://www.cdc.gov/flu/vaccines-work/us-flu-ve-network.html (accessed 20 September 2024).
13. I-MOVE. Influenza – Monitoring Vaccine Effectiveness in Europe. Available at: <https://www.imoveflu.org> (accessed 20 September 2024).
14. The Republic of Belarus will use the influenza vaccine SPbNIIVS. In: SPbNIIVS. Available at: <https://spbniivs.ru/press-center/news/v-respublike-belarus-budut-primenyat-vaktsinu-ot-grippa-spbniivs>. (accessed 20 September 2024).
15. Ministry of Health of the Republic of Belarus. Available at: <https://minzdrav.gov.by> (accessed 20 September 2024).
16. Grzhibovskij A. M., Ivanov S. V., Gorbatoва M. A. Case-control studies in health care. *Sci Health*. 2015; 4: 5–17. (in Russian)
17. AIS «Incidence of ARI». Minsk, 2011–2024. Available at: <http://gripp.belcmt.by/Forms/index.php>. (accessed 20 September 2024).
18. Anoshko O. N., Lapo T. P., Kishhenko E. N., Shmeleva N. P. Sentinel epidemiological surveillance of influenza and COVID-19 infection in the Republic of Belarus in 2019–2022. In: *Virusnye infekcii – ot diagnostiki*

klinike (Viral infections – from diagnosis to clinic): Collection of abstracts of the all-Russian Conference of Young Scientists dedicated to the 55th anniversary of the founding of the A. A. Smorodintsev Research Institute of Influenza. SPb; 2022: 10–1. (in Russian)

19. Maurel M. Interim 2023/24 influenza A vaccine effectiveness: VEBIS European primary care and hospital multicentre studies, September 2023 to January 2024. *Euro Surveill.* 2024; 29(8). DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2024.29.8.2400089.

e-mail для переписки: anoshkoolga@gmail.com

Поступила 07.10.2024

УДК 616.36-002-036.22(476)“2002/2023”

Бобер А. О., Глинская И. Н., Дашкевич А. М., Высоцкая В. С., Скуранович А. Л.

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ПАРЕНТЕРАЛЬНЫМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ НАСЕЛЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ ЗА ПЕРИОД 2002–2023 ГГ.

*Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии
и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь*

Аннотация. Представлены результаты эпидемиологического анализа заболеваемости парентеральными вирусными гепатитами населения Республики Беларусь за 2002–2023 гг. Наблюдается выраженная многолетняя эпидемическая тенденция к снижению заболеваемости парентеральными вирусными гепатитами. В 2023 г. в структуре заболеваемости превалировала доля мужского населения, среди возрастных групп населения наибольшее количество случаев парентеральных вирусных гепатитов зарегистрировано у лиц трудоспособного населения (возраст 30–54 лет). Среди путей передачи по результатам 2023 г. первое место занимал половой путь передачи, второе – неустановленный путь, третье – проведение немедицинских манипуляций с нарушением целостности кожных покровов и (или) слизистых оболочек.

Ключевые слова: парентеральные вирусные гепатиты, хронический вирусный гепатит С, хронический вирусный гепатит В, острый вирусный гепатит С, острый вирусный гепатит В, заболеваемость, Республика Беларусь.

Введение. По обновленным оценкам ВОЗ, в мире в 2022 г. число инфицированных гепатитом В лиц составляло 254 млн, а гепатитом С – 50 млн. Половина хронических форм гепатита В и С приходится на лиц в возрасте 30–54 года, а 12 % – на детей младше 18 лет. На долю мужчин приходится 58 % всех случаев [1].

По состоянию на конец 2022 г. 13 % людей, живущих с хронической инфекцией гепатита В, были охвачены диагностикой, из них только 3 % получали противовирусную терапию. За период 2015–2022 гг. среди людей, живущих с гепатитом С, только 36 % охвачены диагностикой, из них 20 % – получали лечение, что подчеркивает возможность улучшения связи между диагностикой и лечением данных заболеваний. По состоянию на конец 2022 г., 19,5 млн человек получали лечение против вирусных гепатитов, что намного ниже глобальных целей по элиминации вирусного гепатита к 2030 г. [2].

Цель работы – провести анализ заболеваемости парентеральными вирусными гепатитами среди населения Республики Беларусь за период 2002–2023 гг.

Материалы и методы. Анализу подлежали данные о выявленных в 2002–2023 гг. случаях парентеральных вирусных гепатитов в Республике Беларусь (острых и хронических формах вирусного гепатита В и С), персонифицированные данные о выявленных в 2022 и 2023 гг. случаях парентеральных вирусных гепатитов в «Единой информационной системе санитарно-эпидемиологической службы», данные формы «Отчет об отдельных инфекционных, паразитарных заболеваниях и их носителях». Применены методы эпидемиологической диагностики: ретроспективный эпидемиологический анализ, описательно-оценочные методы и статистический метод.

Данные исследования заносились и анализировались в электронных таблицах с помощью программного обеспечения Microsoft Excel 2016. Оценку достоверности многолетней тенденции проводили с применением t-критерия Стьюдента. Статистически значимой считалась 95% вероятность

различий ($p < 0,05$). Скорость изменения показателей оценивали по темпу прироста (далее – Тпр). Эпидемиологическую тенденцию считали стабильной при Тпр от 0 до $\pm 0,99$ %, умеренной при Тпр от ± 1 % до $\pm 4,99$ %, выраженной при Тпр от ± 5 % и больше [3].

Результаты и их обсуждение. Заболеваемость всеми нозоформами парентеральных вирусных гепатитов (далее – ПВГ) в Республике Беларусь за период 2002–2023 гг. распределялась неравномерно, наблюдались колебания уровня заболеваемости от 23,7 на 100 тыс. населения в 2020 г. до 106,2 на 100 тыс. населения в 2006 г. (максимальный и минимальный показатели различались в 4,5 раза). Среднемноголетний уровень заболеваемости составил 70,5 на 100 тыс. населения.

В 2023 г. в Республике Беларусь было зарегистрировано 4946 случаев парентеральных вирусных гепатитов в т. ч. 906 случаев вирусного гепатита В (9,8 на 100 тыс. населения) и 3717 случаев вирусного гепатита С (40,4 на 100 тыс. населения).

Многолетняя динамика заболеваемости ПВГ характеризуется тенденцией к снижению (темп роста (далее – Тр) составил 95,1 %, Тпр составил 4,9 % ($p < 05$) (рисунок 1).

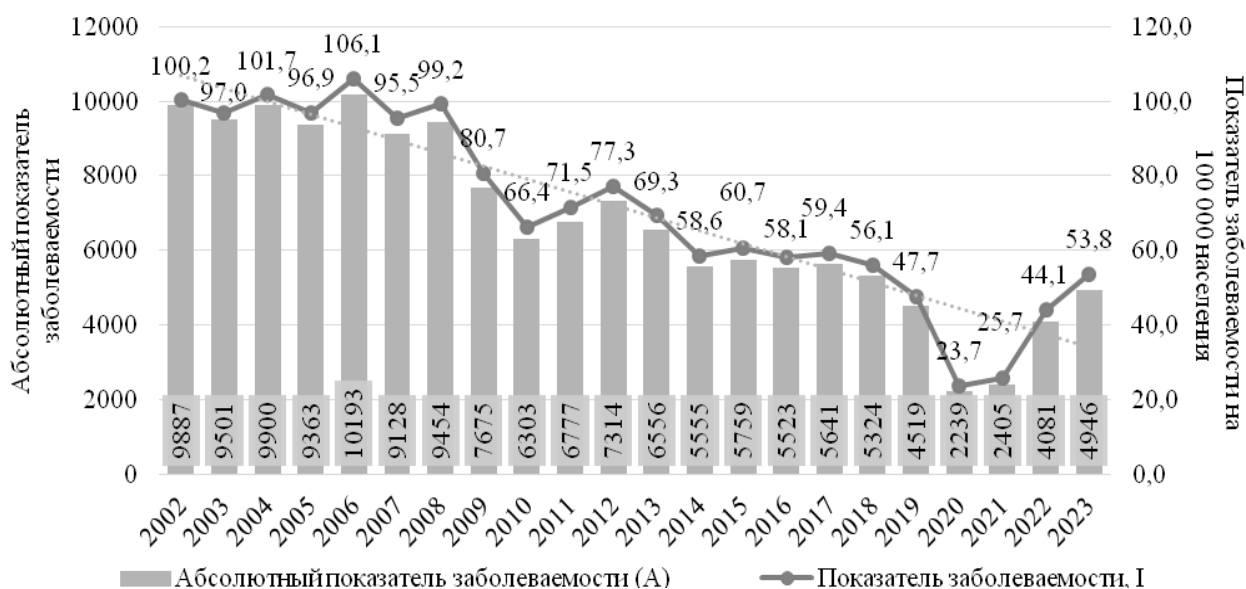


Рисунок 1 – Многолетняя динамика заболеваемости всеми нозологическими формами ПВГ населения Республики Беларусь в 2002–2023 гг.

За изучаемый период многолетняя динамика заболеваемости острым вирусным гепатитом В (далее – ОВГВ) характеризовалась выраженной тенденцией к снижению (Тр = 87,6 %, Тпр = –12,4 %), многолетняя динамика заболеваемости острым вирусным гепатитом С (далее – ОВГС) также характеризовалась выраженной тенденцией к снижению (Тр = 96,3 %, Тпр = –3,7 %, $p < 0,05$).

Вместе с тем многолетняя динамика заболеваемости хроническим вирусным гепатитом В (далее – ХВГВ) характеризовалась умеренной тенденцией к росту (Тр = 101,3 %, Тпр = +1,3 %), многолетняя динамика заболеваемости хроническим вирусным гепатитом С (далее – ХВГС) также характеризовалась умеренной тенденцией к росту (далее – ХВГС) (Тр = 102,7 %, Тпр = +2,7 %, $p < 0,05$).

В этиологической структуре в 2023 г. превалировал вирус гепатита С. В структуре нозологических форм ХВГВ в 2023 г. составлял 17,8 %, что в 4,2 раза ниже доли ХВГС. Данная ситуация в определенной мере является результатом проводимой в стране с 1996 г. селективной, а с 2000 г. в рамках Национального календаря профилактических прививок, вакцинации против ВГВ [4].

В структуре заболевших за 2023 г. доля мужского населения составила 59,5 %, женского – 40,5 %. При анализе заболеваемости отмечена разница в уровнях заболеваемости мужского и женского населения. Так, заболеваемость мужского населения была выше, чем женского в 1,7 раза (рисунок 2). По сравнению с 2022 г. показатели заболеваемости мужского и женского населения изменились (показатель заболеваемости среди мужчин увеличился на 19 % ($p < 0,05$), показатель заболеваемости среди женского населения также увеличился – на 16 % ($p < 0,05$)).

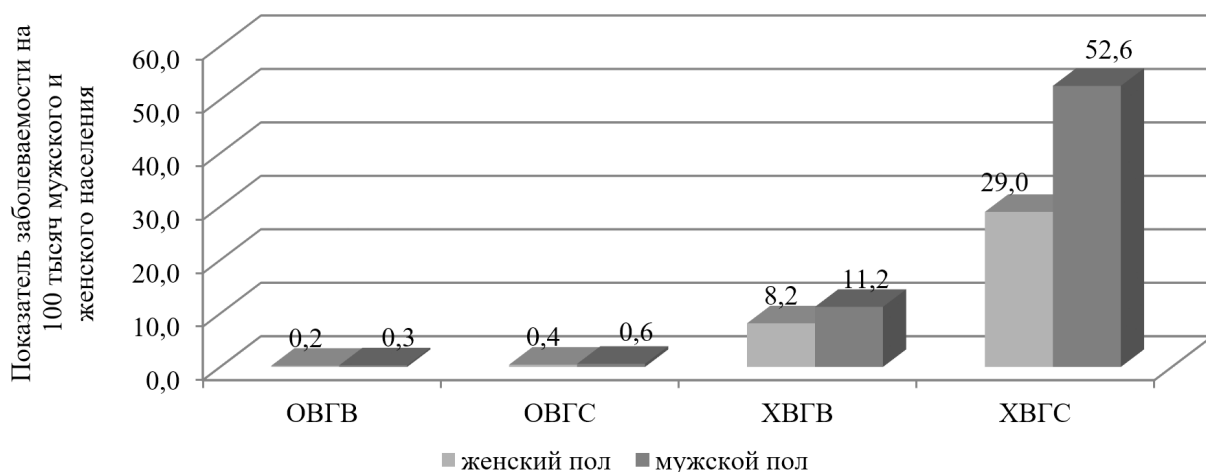


Рисунок 2 – Заболеваемость парентеральными вирусными гепатитами в зависимости от пола в Республике Беларусь в 2023 г.

При анализе структуры заболевших ПВГ за 2023 г. по возрастным группам населения наибольшее количество случаев ПВГ регистрировалось среди трудоспособного населения (возрастная группа 30–54 лет). Показатели заболеваемости составили 3,6 на 10 тыс. среди возрастной группы 30–34 года; 5,9 – на 10 тыс. среди возрастной группы 35–39 лет; 7,9 – на 10 тыс. среди возрастной группы 40–44 года; 9,2 – на 10 тыс. среди возрастной группы 45–49 лет; 9,9 – на 10 тыс. среди возрастной группы 50–54 года (рисунок 3). Как видно из рисунка основной вклад в заболеваемость внесли лица в возрасте старше 45 лет (более 9 на 10 тыс. контингента). Аналогичная возрастная структура заболевших прослеживается хроническими формами ПВГ.

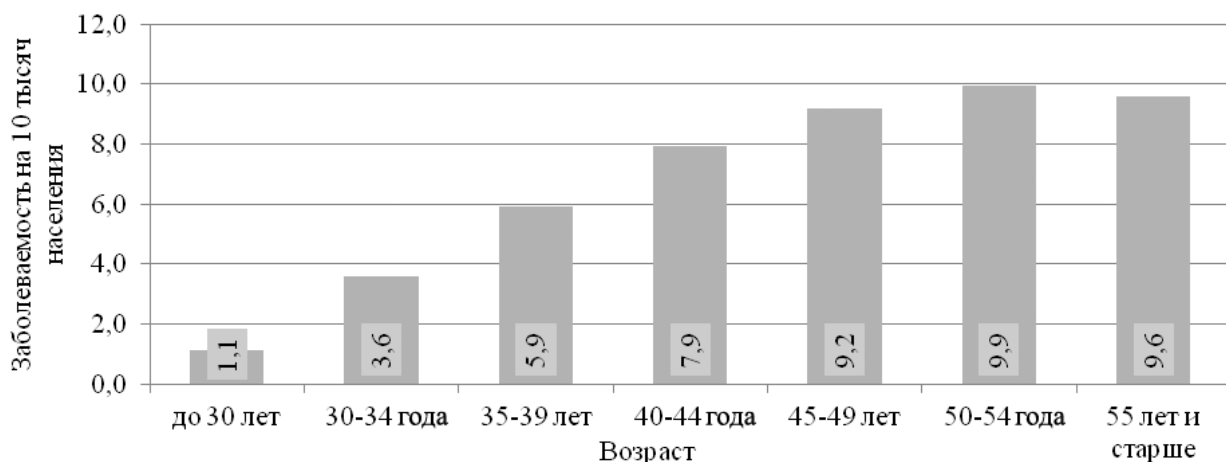


Рисунок 3 – Распределение заболеваемости парентеральными вирусными гепатитами по возрастным группам населения Республики Беларусь в 2023 г.

В динамике за 7 лет в структуре путей передачи отмечается увеличение удельного веса полового пути передачи (с 30,6 % в 2017 г. до 43,1 % в 2023 г.), также выделяется увеличение удельного веса случаев с передачей вируса при проведении немедицинских манипуляций с нарушением целостности кожных покровов и (или) слизистых оболочек (тату, пирсинг, маникюр, педикюр и др.) с 15,5 % в 2019 г. до 18,8 % в 2023 г. (при сборе эпидемиологического анамнеза пациенты указывали на проведение в ориентировочные сроки инфицирования немедицинских манипуляций, четкого доказательства этого пути передачи не установлено). В динамике за 7 лет отмечается снижение удельного веса случаев с неустановленным путем передачи (с 33,7 % в 2017 г. до 19,2 % в 2023 г.), но при этом в структуре путей передачи за 2023 г. неустановленный путь передачи занимал 2 место (рисунок 4).

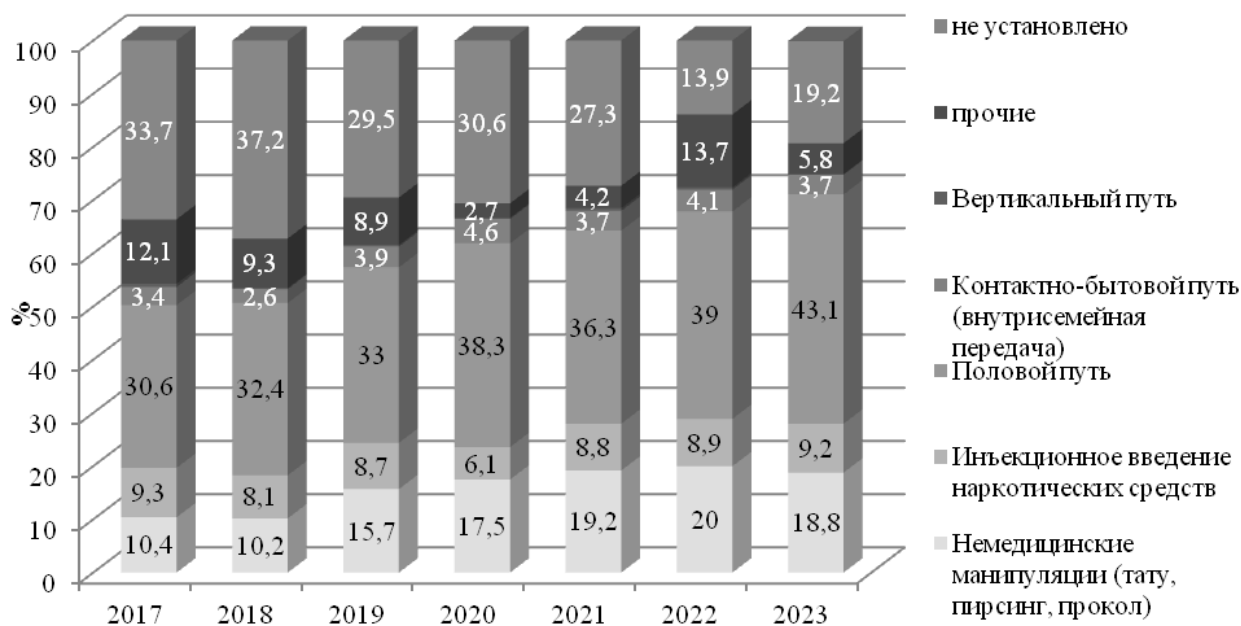


Рисунок 4 – Структура путей передачи ПВГ среди населения в Республике Беларусь в 2017–2023 гг.

Заключение. Анализ данных наблюдения показывает, что в Республике Беларусь на фоне снижения заболеваемости острыми формами вирусных гепатитов В (темп снижения $-12,4\%$, $p < 0,05$) и С (темп снижения $-3,7\%$, $p < 0,05$) отмечается умеренная динамика к росту ХВГВ (темп роста $+1,3\%$, $p < 0,05$) и ХВГС (темп роста $+2,7\%$, $p < 0,05$). Исходя из данных анализа распределения случаев заболеваний ПВГ в 2023 г. в зависимости от возраста населения наибольший удельный вес (около 64%) приходится на лиц, занимающих важное социальное место в обществе (возраст 30–54 года) в силу трудового потенциала. По путям передачи в динамике за 7 лет наблюдается снижение доли неустановленного пути передачи. В 2023 г. лидирующее место среди путей передачи занимал половой путь. Таким образом, снижение количества случаев ПВГ напрямую зависит как от качества проведения комплекса санитарно-противоэпидемических мероприятий, куда входит в первую очередь специфическая профилактика вируса гепатита В, мероприятия направленные на недопущение распространения инфекции в очаге, так и лечебных мероприятий (охват инфицированного населения диспансеризацией, специфическое противовирусное лечение).

Литература

- ВОЗ бьет тревогу: вирусные гепатиты ежедневно уносят 3500 жизней : пресс-релиз Всемирной организации здравоохранения от 9 апреля 2024 г. – Женева, 2024. – URL : <https://www.who.int/ru/news/item/09-04-2024-who-sounds-alarm-on-viral-hepatitis-infections-claiming-3500-lives-each-day> (дата обращения: 10.07.2024).
- Global hepatitis report 2024: action for access in low- and middle-income countries // WHO. – Geneva, 2024. – URL : <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376461/9789240091672-eng.pdf> (date of access: 15.07.2024).
- Эпидемиологическая диагностика: учеб. пособие / Г. Н. Чистенко, М. И. Бандацкая, А. М. Близнюк [и др.] ; под общ. ред. Г. Н. Чистенко. – Минск : [б. и.], 2007. – 148 с.
- Вирусный гепатит В: эпидемиология, клиника, лечение, профилактика: учеб.-метод. пособие / А. А. Ключарева, Н. Д. Коломиец, А. Н. Осирко [и др.]. – Минск : БелМАПО, 2011. – 62 с.

Babior N. A., Hlinskaya I. N., Dashkevich A. M., Vysotskaya V. S., Skuranovich A. L.

EPIDEMIOLOGICAL SITUATION FOR PARENTERAL VIRAL HEPATITIS MORBIDITY IN THE REPUBLIC OF BELARUS, 2002–2023

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

The results of the epidemiological analysis of the incidence of parenteral viral hepatitis in the population of the Republic of Belarus for the period of 2002–2023 are presented. There is a pronounced long-term

epidemiological trend towards a decrease in the incidence of parenteral viral hepatitis. In 2023, the proportion of the male population prevailed in the morbidity structure, among the age groups of the population, the largest number of cases of parenteral viral hepatitis was registered among the working-age population (age 30–54 years).

Keywords: parenteral viral hepatitis, chronic viral hepatitis C, chronic viral hepatitis B, acute viral hepatitis C, acute viral hepatitis B, morbidity, Republic of Belarus.

References

1. WHO sounds alarm on viral hepatitis infections claiming 3500 lives each day: news-release World Health Organization. Geneva; 2024. Available at: <https://www.who.int/news/item/09-04-2024-who-sounds-alarm-on-viral-hepatitis-infections-claiming-3500-lives-each-day> (accessed 10 July 2024).

2. Global hepatitis report 2024: action for access in low- and middle-income countries. Geneva; 2024. Available at: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376461/9789240091672-eng.pdf> (accessed 15 July 2024).

3. Chistenko G. N., Bandackaya M. I., Bliznyuk A. M. et al. Epidemiological diagnosis: study guide. Minsk; 2007. (in Russian)

4. Klyuchareva A. A., Kolomiets N. D., Oskirko A. N. et al. Viral hepatitis B: epidemiology, clinic, treatment, prevention: educational and methodological manual. Minsk; 2011. (in Russian)

e-mail для переписки: nastya.bobyor@yandex.ru

Поступила 04.10.2024

УДК [616.98:578.828]-071:615.37 (476.1)

Коломиец Н. Д., Кононович С. И.¹, Светогор Т. Н.¹, Буко О. Г.², Романова О. Н.³

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВПЕРВЫЕ ДИАГНОСТИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ НА ТЕРРИТОРИИ МИНСКОЙ ОБЛАСТИ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ В 2022–2023 ГГ.

Институт повышения квалификации и переподготовки кадров здравоохранения учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь

¹ *Государственное учреждение «Минский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь*

² *Учреждение здравоохранения «Минская областная клиническая больница», г. Минск, Республика Беларусь*

³ *Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь*

Аннотация. На территории Минской области в 2022–2023 гг. впервые ВИЧ-инфекция была установлена у 539 человек. В эпидемический процесс вовлечены все возрастные группы населения, но чаще ВИЧ-инфекция регистрировалась в возрастной группе 30–49 лет – 398 пациентов (73,8 %). При постановке на диспансерный учет по ВИЧ-инфекции, клинически 3 и 4 стадии ВИЧ-инфекции установлены у 86 пациентов (16 %). Количественный анализ CD4-лимфоцитов выполнен для 489 пациентов. ВИЧ-ассоциированный иммунодефицит (далее – ИД) (≤ 350 клеток/мкл) имели 238 (49 %; 95% ДИ 44,6–53,4) и высокую (> 5000 копий РНК ВИЧ/мл) вирусную нагрузку (далее – ВН) 223 пациента (94 %). Среди 122 пациентов (51 %) с ИД в тяжелой форме (< 200 кл/мкл), высокая ВН была определена у 117 пациентов (94 %). Выраженный ИД (200–349 кл/мкл) наблюдали у 116 пациентов (49 %), из которых высокую ВН имели 106 (91 %). Впервые выявленный пациент с ВИЧ-инфекцией на территории Минской области характеризуется как лицо старше 30 лет, мужского пола, работающий или без определенной деятельности, практикующий рискованное сексуальное поведение, имеющий ВИЧ-ассоциированный иммунодефицит и высокую вирусную нагрузку, достаточно поздно обратившийся за медицинской помощью.

Ключевые слова: ВИЧ/СПИД, заболеваемость, иммунологический статус, иммуносупрессия, уровень CD4-лимфоцитов, вирусная нагрузка.

Введение. Инфекция, вызванная вирусом иммунодефицита человека, и пандемия синдрома приобретенного иммунодефицита (ВИЧ/СПИД) представляет собой одну из самых серьезных угроз для глобального здоровья и благополучия общества. В борьбе с ВИЧ/СПИД мир добился значительного прогресса, но перед обществом все еще стоят серьезные задачи. В 2022 г. общее количество людей, живущих с ВИЧ, достигло 39 млн. Это число охватывает диапазон от 33,1 до 45,7 млн человек, учитывая статистическую погрешность. Смертность от заболеваний, связанных со СПИД, снизилась на 69 % с пикового уровня 2004 г. и на 51 % с 2010 г., что свидетельствует о значительных успехах в лечении и профилактике. Стратегия тестирования и лечения 95–95–95 показала, что в 2022 г. 86 % людей, живущих с ВИЧ, были осведомлены о своем статусе. Среди них 89 % имели доступ к лечению и 93 % из тех, кто получал терапию, достигли подавленной вирусной нагрузки. Это огромный шаг вперед, но только пять стран – Ботсвана, Эсватини, Руанда, Танзания и Зимбабве – смогли достичь поставленных целей к 2022 г. Число новых случаев ВИЧ сократилось на 59 % по сравнению с 1995 г., когда был зафиксирован пиковый уровень. В 2022 г. было зарегистрировано около 1,3 млн новых случаев, что значительно меньше, чем 3,2 млн в 1995 г. Благодаря усилиям международного сообщества, ожидаемая продолжительность жизни людей, живущих с ВИЧ и получающих эффективную антиретровирусную терапию, приближается к продолжительности жизни людей без ВИЧ. Однако своевременное выявление ВИЧ и формирование приверженности к лечению у новых пациентов остается критической задачей, требующей немедленного решения [1, 2].

Ранняя диагностика заболевания является основой для успешного диспансерного наблюдения и лечения пациентов. Острая фаза ВИЧ-инфекции может протекать скрыто или сопровождаться множественными неспецифическими симптомами, что затрудняет ее своевременную диагностику. По данным литературы, более 65 % пациентов имеют бессимптомное течение ВИЧ-инфекции. Одним из прогностических критериев успеха терапии ВИЧ-инфекции является иммунологический статус у вновь выявленных пациентов. В организме репликация вируса происходит в CD4-лимфоцитах – они гибнут, и система клеточного иммунитета перестает защищать организм, присоединяются оппортунистические инфекции (туберкулезная и микобактериальная инфекция, пневмоцистная пневмония, генерализованные грибковые, вирусные инфекции, токсоплазмоз, опухоли, энцефалопатия) [2]. У значительного количества впервые выявленных пациентов на момент диагностики ВИЧ-инфекции устанавливается выраженный и тяжелый ВИЧ-ассоциированный иммунодефицит, указывающий на высокий риск развития тяжелого заболевания и сокращение продолжительности жизни.

При ВИЧ-инфекции сохранить здоровье и жизнь можно только с помощью антиретровирусной терапии (далее – АРТ), препятствующей размножению вируса в организме и уменьшающей риск передачи вируса другим людям, продлевая жизнь человеку с ВИЧ [3]. Это требует совершенствования и расширения программ по диагностике, профилактике, лечению ВИЧ-инфекции с повышением приверженности пациентов к АРТ и диспансерному наблюдению [4, 5]. ВИЧ-инфекция по-прежнему остается ведущей причиной смерти людей молодого возраста. В свою очередь, летальность и смертность населения от ВИЧ-инфекции можно рассматривать как показатели успешности своевременного выявления, диспансеризации и лечения больных с ВИЧ-инфекцией.

Среди пациентов с ВИЧ-инфекцией наиболее сложными для наблюдения и лечения являются пациенты с тяжелым иммунодефицитом, когда уровень CD4-лимфоцитов в крови менее 200 клеток/мкл. В Российской Федерации, по данным Н. Н. Ладной, в 2018 г. 34,5 % впервые выявленных пациентов (уровень CD4-лимфоцитов менее 350 клеток/мкл), из них около 15 % имели тяжелый иммунодефицит. В Республике Мордовия в 2018 г. поздняя диагностика ВИЧ-инфекции имела место в 38,1 % случаев, а у 14,5 % был диагностирован тяжелый иммунодефицит; в 2019 г. поздняя диагностика ВИЧ-инфекции зарегистрирована у 20 % впервые выявленных пациентов, при этом тяжелый иммунодефицит диагностирован у 17 % пациентов [6]. По результатам ряда исследований установлено, что продолжительность жизни ВИЧ-позитивных пациентов, начавших АРТ при количестве CD4-лимфоцитов менее 200 клеток/мкл, в среднем на 10 лет меньше данного показателя у пациентов, начавших АРТ при количестве CD4-лимфоцитов более 350 клеток/мкл [7].

Таким образом, раннее выявление ВИЧ-позитивных пациентов в настоящее время считается одной из наиболее эффективных стратегий контроля эпидемии ВИЧ-инфекции.

Цель работы – характеристика общего профиля впервые выявленного ВИЧ-инфицированного пациента по эпидемиологическим, социально-демографическим, иммунологическим и клиническим данным.

Материалы и методы. Для исследования применены методы эпидемиологической диагностики (ретроспективный и оперативный эпидемиологический анализ), клинико-лабораторные, описательно-оценочные и статистические методы исследования. При изучении многолетней динамики заболеваемости, распространенности, смертности населения использовали интенсивные показатели, рассчитанные на 100 000 населения.

Изучение заболеваемости и распространенности ВИЧ-инфекции проводилось с использованием данных форм официальной ведомственной статистики, утвержденных приказом Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 30.12.2009 № 1213 «Об утверждении документации по проблеме ВИЧ / СПИДа», и сведений о случаях ВИЧ-инфекции, внесенных в Республиканский регистр пациентов с ВИЧ-инфекцией.

Определение иммунологического статуса и вирусной нагрузки выполнялось на базе референс-лаборатории диагностики ВИЧ/СПИД лабораторного отдела государственного учреждения «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья».

Статистическая обработка цифрового материала с целью определения удельного веса и структуры первичных данных проводилась с использованием компьютерной программ Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение. В период наблюдения впервые ВИЧ-инфекция была установлена у 539 человек, при этом таких пациентов в 2022 г. было достоверно больше, чем в 2023 г., – 305 (56,7 %; 95% ДИ 52,4–60,8 %) и 234 человека (43,4 %; 95% ДИ 39,2–47,6 %) соответственно. Показатель заболеваемости ВИЧ-инфекцией за 2022 г. – $20,8 \pm 2,34$, а в 2023 г. – $16,0 \pm 2,05$ случая на 100 тыс. населения. Отмечается темп снижения на 23,1 % ($p < 0,05$).

При постановке на диспансерный учет по ВИЧ-инфекции, клинически 3 и 4 стадии ВИЧ-инфекции были установлены у 86 пациентов (16 %) и показатель поздней диагностики ВИЧ-инфекции по критерию установления 4 стадии на момент выявления ВИЧ-инфекции составил 18 пациентов (3,3 %). Количественный анализ CD4-лимфоцитов был выполнен для 489 пациентов, из них 293 человека (60 %; 95% ДИ 55,5–64,2 %) – лица мужского пола и 196 человек (40 %; 95% ДИ 35,8–44,5 %) – лица женского пола ($p < 0,001$). В 2022 г. из 238 пациентов у 125 ВИЧ-инфицированных (46 %; 95% ДИ 46,2–58,8 %) уровень CD4-лимфоцитов был ≤ 350 клеток/мкл, то есть наблюдался выраженный иммунодефицит (далее – ИД), из них уровень CD4-лимфоцитов ≤ 200 клеток/мкл чуть больше половины пациентов – 64 человека (51 %). По гендерному признаку статистически значимые различия были между мужчинами и женщинами с ИД ≤ 200 клеток/мкл – 43 (67 %; 95% ДИ 51,8–74,7 %) и 21 (33 %; 95% ДИ 25,3–48,2 %) пациент соответственно ($p < 0,001$). Других статистически значимых различий у ВИЧ-инфицированных в 2022 г. по гендерному признаку не отмечено (таблица 1).

Установлено, что ИД (≤ 350 клеток/мкл) имели 238 (49 %; 95% ДИ 44,6–53,4 %) и высокую вирусную нагрузку (далее – ВН) 223 пациента (94 %; 95% ДИ 89,9–96,1 %). Среди 122 пациентов (51 %) с ИД в тяжелой форме (< 200 клеток/мкл), высокая ВН была определена у 117 пациентов (94 %). Выраженный ИД (200–349 клеток/мкл) наблюдали у 116 (49 %) пациентов, из которых высокую ВН имели 106 (91 %) пациентов (таблица 1).

Таблица 1 – Уровни CD4-лимфоцитов и гендерная характеристика у впервые выявленных пациентов с ВИЧ-инфекцией за 2022–2023 гг.

Количество CD4-лимфоцитов (клеток/мкл)	2022 г., абс. (%)			2023 г., абс. (%)		
	мужчины n = 161	женщины n = 108	всего n = 269	мужчины n = 132	женщины n = 88	всего n = 220
≤ 350	79 (63)	46 (37)	125 (46)	64 (48)	49 (56)	113 (51)
В том числе:						
< 200	43 (67)	21 (33)	64 (51)	37 (58)	21 (43)	58 (51)
200–349	36 (59)	25 (41)	61 (49)	27 (42)	28 (57)	55 (49)
$350 \geq$	82 (57)	62 (43)	144 (54)	68 (52)	39 (44)	107 (49)

Преимущественно ВИЧ-инфицированными оказались лица мужского пола практически в равных долях по годам наблюдения (2022 г. – 62,0 %, 2023 г. – 60,3 %). Как и в целом в стране, в распространении инфекции в Минской области сохраняется лидирующая роль полового пути передачи. В 2022 г. на половой путь инфицирования указали 240 (78,7 %), в 2023 г. – 185 человек (79,1 %). Соответственно на долю парентерального пути пришлось в 2022–2023 гг. по 18,7 % случаев инфицирования.

В эпидемический процесс были вовлечены все возрастные группы населения. Но чаще ВИЧ-инфекция регистрировалась в возрастной группе 30–49 лет – 398 пациентов (73,8 %). Инфицирование происходило в основном половым путем, суммарно – 466 человек (86,4 %), удельный вес лиц, инфицирование которых произошло парентеральным путем, составил 98 пациентов (18,2 %).

В социальной структуре впервые выявленных случаев ВИЧ-инфекции работающее население составило 272 (50 %), лица без определенных занятий – 185 человек (34 %) и остальные относились к лицам из мест лишения свободы и прочим. В эпидемиологически значимой возрастной группе чаще выявлялись тяжелые и выраженные ВИЧ-ассоциированные иммунодефициты. Наибольшая доля лиц с иммуносупрессией за 2022 г. пришлось на возрастные группы 30–39 лет – 28 % (n = 35 из 125) и 40–49 лет – 48 % (n = 60 из 125); за 2023 г. – 35,4 % (n = 40 из 113) и 38,9 % (n = 44 из 113) случаев соответственно.

В структуре общих скрининговых обследований на ВИЧ за 2022–2023 гг. превалирует добровольное медицинское освидетельствование, составляя 81 % и 81,1 % по годам соответственно, а доля обследованных по клиническим показаниям составила только 2,13 % и 2,56 % соответственно. При анализе причин обследования на ВИЧ-инфекцию лиц, впервые выявленных с ВИЧ-инфекцией и тяжелым ВИЧ-ассоциированным иммунодефицитом за 2022 г., преобладает добровольное обследование – 67,2 % (n = 43), с выраженным – 68,9 % (n = 42). При постановке на диспансерный учет по ВИЧ-инфекции, клинически 3 и 4 стадии ВИЧ-инфекции были установлены у 86 пациентов (16 %) и показатель поздней диагностики ВИЧ-инфекции по критерию установления 4 стадии на момент выявления ВИЧ-инфекции составил 18 пациентов (3,3 %).

Установлено, что за 2022 г. в структуре лиц с тяжелым ВИЧ-ассоциированным иммунодефицитом 45,3 % (n = 29 из 64) приходится на лиц без определенной деятельности, с выраженным – 57,4 % (n = 35 из 61) на работающее население. За 2023 г. удельный вес работающего населения в структуре лиц с тяжелым и выраженным ВИЧ-ассоциированным иммунодефицитом составил 58,6 % (n = 34 из 58) и 60 % (n = 33 из 55) соответственно (таблица 2).

При рассмотрении социально-профессиональной структуры впервые выявленных ВИЧ-инфицированных пациентов мы отметили, что более 50 % составило работающее население 130 человек (54,6 %) суммарно и по годам наблюдения 63 (50,4 %), 67 пациентов (59,3 %) соответственно. Лица без определенной деятельности составили 88 человек (40 %) суммарно и по годам наблюдения 52 (41,6 %), 36 пациентов (31,9 %) соответственно. Другие контингенты были малочисленны, и эти данные представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Социально-профессиональная структура впервые выявленных пациентов с диагнозом ВИЧ-инфекция с тяжелой и выраженной иммуносупрессией за 2022–2023 гг.

Контингент	2022 г.			2023 г.		
	≤ 200 клеток/мкл CD4-лимфоцитов	201–350 клеток/мкл CD4-лимфоцитов	всего	≤ 200 клеток/мкл CD4-лимфоцитов	201–350 клеток/мкл CD4-лимфоцитов	всего
	n (%)			n (%)		
Работающее население	28 (43,8)	35 (57,4)	63 (50,4)	34 (58,6)	33 (60,0)	67 (59,3)
Лица без определенной деятельности	29 (45,3)	23 (37,7)	52 (41,6)	17 (29,3)	19 (34,5)	36 (31,8)
Прочие контингенты	5 (7,8)	1 (1,6)	6 (10,3)	6 (10,3)	3 (5,5)	9 (8,0)
Лица, выявленные при поступлении в МЛС	2 (3,3)	2 (3,3)	4 (3,2)	1 (1,7)	0	1 (0,9)
Итого	64	61	125	58	55	113

Следует отметить, что среди работающих в 2022 г. лица с уровнем 201–350 клеток/мкл и в 2023 г. встречались статистически значимо чаще, чем среди лиц без определенной деятельности 35 (57,4 %; 95% ДИ 29,5–53,5 %) и 23 человека (37,7 %; 95% ДИ 26,6–50,3 %) соответственно (p = 0,03). В 2023 г. статистически значимые различия между рабочим населением и лицами без определенной деятельности были не только в группах пациентов с уровнем CD4-лимфоцитов 201–350 клеток/мкл, но и с уровнем CD4-лимфоцитов ≤ 200 клеток/мкл, p = 0,01 и p < 0,00 соответственно.

Заключение. В 2022–2023 гг. впервые выявленный пациент с ВИЧ-инфекцией на территории Минской области Республики Беларусь характеризуется как лицо старше 30 лет, мужского пола, работающий или без определенной деятельности, практикующий рискованное сексуальное поведение, имеющий ВИЧ-ассоциированный иммунодефицит и высокую вирусную нагрузку, достаточно поздно обратившийся за медицинской помощью.

Исследование выполнено в рамках Государственной программы «Здоровье народа и демографическая безопасность» на 2021–2025 годы (глава 7, подпрограмма 5 «Профилактика ВИЧ-инфекции»).

Литература

1. Global AIDS Strategy 2021–2026 – End Inequalities. End AIDS [Electronic resource] // UNAIDS. – Mode of access: https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/global-AIDS-strategy-2021-2026_en.pdf. – Date of access: 20.09.2024.

2. HIV and AIDS. Key facts. 22 July 2024 [Electronic resource] // World Health Organization. – Mode of access: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids>. – Date of access: 20.09.2024.

3. Epidemiological and clinical characteristics of HIV infected patients at a tertiary care hospital in Oman / F. Khamis [et al.] // *Oman Med. J.* – 2018. – Vol. 33, iss. 4. – P. 291–298.

4. Tang, Li-juan. Characteristics of newly-diagnosed HIV infected cases in Macao Special Administrative Region, 2012–2018 / Li-juan Tang, Shu-ling Xie, Yi-qiao Yin // *Chinese Journal of Public Health.* – 2021. – Vol. 37, iss. 1. – P. 128–130.

5. Characteristics of new HIV diagnoses over 1995–2019: A clinic-based study in Montréal, Canada / K. Giguère [et al.] // *PLoS One.* – 2021. – Vol. 16, iss. 10. – Art. № e0258383.

6. ВИЧ-инфекция в Республике Мордовия: особенности пациентов, выявленных на стадии тяжелого иммунодефицита / М. Г. Ласеева [и др.] // *Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы* : сб. трудов XIII Ежегодного Всерос. Конгресса по инфекционным болезням имени академика В. И. Покровского, Москва, 24–26 мая 2021 г. / Федерал. служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека [и др.] ; редкол.: А. Ю. Попова (председатель) [и др.]. – М., 2021. – С. 91.

7. Добровольская, Ю. В. Позднее выявление ВИЧ-положительных пациентов: факторы риска и пути решения проблемы / Ю. В. Добровольская, А. И. Василенко // *Клиническая инфектология и паразитология.* – 2014. – Спецвыпуск. – С. 112–121.

Kolomiets N. D., Kononovich S. I.¹, Svetogor T. N.¹, Buko O. G.², Romanova O. N.³

GENERAL CHARACTERISTICS OF NEWLY DIAGNOSED PATIENTS WITH HIV INFECTION IN THE MINSK REGION, THE REPUBLIC OF BELARUS IN 2022–2023

Institute for Advanced Training and Retraining of Healthcare Personnel of the Educational Institution «Belarusian State Medical University», Minsk, Belarus

¹ *State institution «Minsk Regional Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus*

² *Healthcare Institution Education «Minsk Regional Clinical Hospital», Minsk, Belarus*

³ *Educational Institution «Belarusian State Medical University», Minsk, Belarus*

On the territory of the Minsk region in 2022–2023, HIV infection was established for the first time in 539 people. All age groups of the population are involved in the epidemic process, but HIV infection was more often registered in the age group of 30–49 years – 398 patients (73.8 %). In 86 patients (16 %), clinically advanced stages (3 and 4) of HIV infection were established when registering for dispensary HIV infection. 489 patients underwent quantitative analysis of CD4 lymphocytes. The proportion of HIV-associated immunodeficiency (hereinafter – ID) in 238 patients (49 %) was 49 percent, and in 223 patients (94 %), the viral load was high (more than 5,000 copies of HIV/μL RNA). Among 122 patients (51 %) with severe ID (< 200 cells/μL), high viral load (hereinafter – VL) was detected in 117 patients (94 %). A pronounced ID (200–349 cells/μL) was observed in 116 patients (49 %), of whom 106 (91 %) had high VL. A newly diagnosed patient with HIV infection in the Minsk region is a person over 30 years of age, male, working or without certain activities, practicing risky sexual behavior, having HIV-associated immunodeficiency and a high viral load, and seeking medical care rather late.

Keywords: HIV/AIDS, morbidity, immunological status, immunosuppression, CD4 lymphocyte count, viral load.

References

1. UNAIDS (2021). Global AIDS Strategy 2021–2026 – End Inequalities. End AIDS. Available at: https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/global-AIDS-strategy-2021-2026_en.pdf (accessed 20 September 2024).
2. World Health Organization (2024). HIV and AIDS. Available at: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids?gad_source=1&gclid=CjwKCAjw3624BhBAEiwAkxgTOoldf7XKj75h1VDoitxe8AmLbXHf9qdNloCgGRcmfyvJCldzVhR8hxoC_koQAvD_BwE (accessed 20 September 2024).
3. Khamis F., Al Noamani J., Al Naamani H. et al. Epidemiological and Clinical Characteristics of HIV Infected Patients at a Tertiary Care Hospital in Oman. *Oman Med J.* 2018; 33(4): 291–98.
4. Tang Li-juan, Xie Shu-ling, Yin Yi-qiao. Characteristics of newly-diagnosed HIV infected cases in Macao Special Administrative Region, 2012–2018. *Chinese J. Public Health.* 2021; 37(1): 128–30.
5. Giguère K., Vaziri M., Olivier C. et al. Characteristics of new HIV diagnoses over 1995–2019: A clinic-based study in Montréal, Canada. *PLoS One.* 2021; 16(10): e0258383.
6. Laseeva M. G., Vlasova T. I., Konstantinova S. V. et al. HIV infection in the Republic of Mordovia: characteristics of patients diagnosed at the stage of severe immunodeficiency. In: *Popova A. Yu., chief ed. Proceedings of the XIII Annual All-Russian Congress on Infectious Diseases named after Academician V. I. Pokrovsky «Infectious diseases in the modern world: evolution, current and future threats».* 2021, May 24–26; Moscow; 2021: 91. (in Russian)
7. Dobrovol'skaja J. V., Vasilenko A. I. Late detection of HIV-positive patients: risk factors and solutions. *Klinicheskaja infektologija i parazitologija.* 2014; special issue: 112–21. (in Russian).

e-mail для переписки: ndkolomiets@mail.ru

Поступила 14.10.2024

УДК 618.146-006.6-036.22(476.2)

Логина О. П., Шевченко Н. И., Веялкин И. В., Гасич Е. Л.¹

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ В ГОМЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека», г. Гомель, Республика Беларусь

¹ Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. В статье представлены сведения о заболеваемости и смертности раком шейки матки в Гомельской области за период с 2013 по 2022 год. В структуре заболеваемости женщин Гомельской области злокачественные опухоли шейки матки в 2022 году занимали 11 ранговое место и составили 2,65 %. Выявлено увеличение показателей заболеваемости раком шейки матки у жительниц села с $(13,99 \pm 5,38) \text{‰}_{0000}$ в 2014 году до $(31,58 \pm 8,42) \text{‰}_{0000}$ в 2019 году со снижением к 2022 году – $(22,25 \pm 7,37) \text{‰}_{0000}$. При изучении по возрастных показателей заболеваемости раком шейки матки установлено, что максимальные уровни заболеваемости наблюдались в группе 35–49 лет – $41,6 (32,0–53,1) \text{‰}_{0000}$ у сельских жителей значительно выше, чем у городских. Настораживает высокий уровень смертности среди молодых женщин, особенно в сельской местности. В Республике Беларусь, как и в Гомельской области, отмечается снижение стандартизованных по возрасту показателей заболеваемости с одинаковыми темпами (–1,4 (–2,42–0,41) % в год и –1,7 (–4,13–0,8) % в год соответственно. Таким образом, полученные эпидемиологические данные подчеркивают необходимость повышения эффективности скрининговых и профилактических осмотров женщин, особенно в сельской местности.

Ключевые слова: рак шейки матки, заболеваемость, смертность, эпидемиология.

Введение. По оценкам GLOBOCAN, в мире в 2020 году у 604 000 женщин был выставлен диагноз рак шейки матки, а 342 000 женщин умерли от этого заболевания [1]. Уровень заболеваемости и смертности от рака шейки матки (далее – РШМ) варьирует не только в разных странах, но и в разных регионах одной и той же страны и изменяется в различные временные промежутки, но по-прежнему остается на высоком уровне. Ранее Беляковский В. Н. и соавт. установили, что с 1995 по 2014 год в Гомельской

области сложилась неблагоприятная тенденция роста заболеваемости раком шейки матки у сельских женщин репродуктивного возраста при снижении заболеваемости и смертности в среднем и пожилом возрасте [2]. На уровень заболеваемости РШМ оказывают влияние такие факторы, как социально-экономические условия жизни, уровень оказания акушерско-гинекологической помощи в стране или регионе, онкологическая настороженность врачей общей лечебной сети, проведение скрининговых программ по РШМ. На сегодняшний день в Республике Беларусь РШМ занимает одну из лидирующих позиций в структуре женской онкологической заболеваемости и смертности, а также является важной социальной и медицинской проблемой, в связи с этим актуально проведение эпидемиологических и скрининговых исследований по данному вопросу.

За последние годы наблюдается тенденция к существенному росту доли женщин репродуктивного возраста, страдающих РШМ. В этой возрастной группе увеличилась не только заболеваемость, но и смертность. Особую тревогу вызывают возрастающая частота запущенных стадий РШМ в возрасте моложе 29 лет и рост смертности среди 35–40-летних женщин. Одним из этиологических факторов возникновения РШМ является вирус папилломы человека (далее – ВПЧ) высокого онкогенного риска. По мировой статистике, 9–12 % новых случаев рака у женщин связано с ВПЧ-инфекцией [3].

Цель работы – изучить показатели заболеваемости РШМ и смертности от него в Гомельской области за период 2013–2022 гг.

Материал и методы. В работе использована информация Белорусского республиканского канцер-регистра о случаях РШМ в Гомельской области за 2013–2022 гг. Были рассчитаны и проанализированы показатели заболеваемости и смертности (грубые интенсивные (CR)), стандартизованные по возрасту (ASR) и повозрастные (AsR) РШМ на 100 000 женского населения ($^{\circ}/_{0000}$) с разделением заболевших по месту жительства (город-село). Данные представлены в виде показателей и 95% доверительного интервала (далее – 95% ДИ) или показателя $\pm 1,96*SE$ (где SE – стандартная ошибка среднего). Сравнение показателей проводилось с использованием точного критерия Фишера. Для оценки динамики показателей использовался анализ темпов прироста (APC в процентах в год) на основе экспоненциальной модели регрессии. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

Результаты и обсуждение. В структуре заболеваемости женщин Гомельской области злокачественные опухоли шейки матки в 2022 году занимали 11 ранговое место. Как показано на рисунке 1, с 2013 по 2022 год не наблюдалось значимого изменения числа выявленных случаев РШМ в Гомельской области (APC = $-1,2$ ($-4,31$ – $1,95$) % в год), ни у сельских ($-1,1$ ($-7,14$ – $4,97$) % в год), ни у городских жителей (APC = $-1,2$ ($-4,84$ – $2,41$) % в год). Так, число ежегодно регистрируемых новых случаев заболевания в 2013 году составило 147 (58 – у женщин села и 89 – у городских) случаев, а в 2022-м – 121 случай (35 – у женщин села и 86 – у городских). За период с 2013 по 2022 год в Гомельской области зарегистрировано 1237 случаев РШМ.

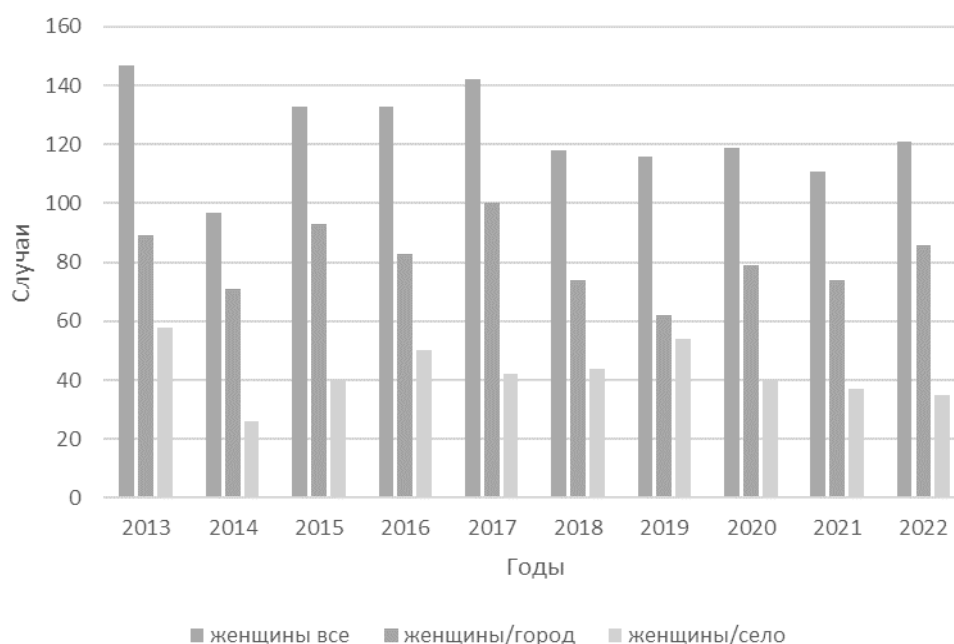


Рисунок 1 – Динамика ежегодно выявляемых случаев заболеваемости РШМ в Гомельской области 2013–2022 гг.

На рисунке 2 приведена динамика грубых интенсивных показателей заболеваемости РШМ у жителей города и села Гомельской области. Самый высокий показатель установлен у жительниц села ($31,58 \pm 8,42$) ‰ в 2019 году со снижением к 2022 году – ($22,25 \pm 7,37$) ‰. Вероятно, это связано с проведением скринингового исследования в рамках совместного белорусско-итальянского проекта «Разработать и внедрить алгоритм скрининговых мероприятий по раннему выявлению рака шейки матки» (Ротари клуб «Адда Лодиджано-Италия»), целью которого было проведение цитологического скрининга и обследование на вирус папилломы человека высокого канцерогенного риска женщин из 4 районов Гомельской области (Чечерский, Добрушский, Хойникский, Ветковский). После выявления патологии по результатам цитологического скрининга у участниц исследования проводилась дополнительная консультация врачами акушерами-гинекологами этим женщинам и было назначено необходимое лечение.

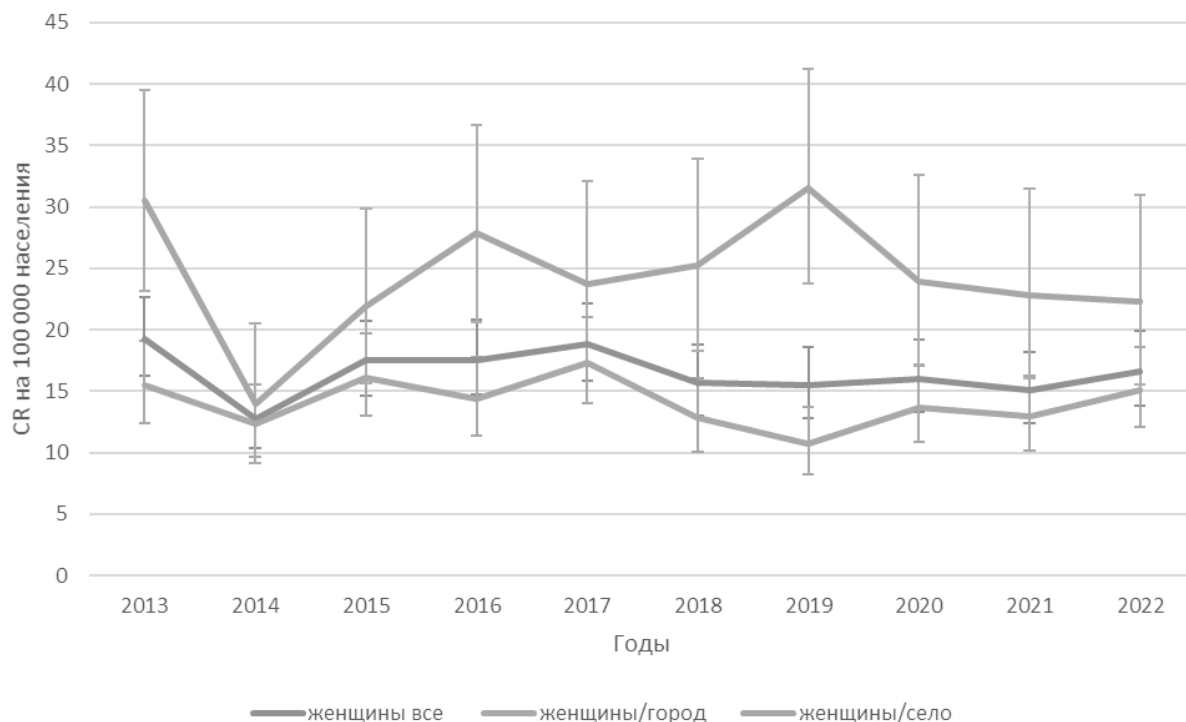


Рисунок 2 – Динамика грубых интенсивных показателей (CR 95% ДИ) заболеваемости РШМ в Гомельской области за период с 2013 по 2022 год

В целом заболеваемость жителей села была выше, чем городских жителей, достоверно в 2013, 2016, 2018 и 2019 гг. При этом если у сельских жителей отмечался рост этого показателя в период с 2014 по 2019 год на 13,2 (2,28–24,11) % в год ($p < 0,05$), то у городских – значимо не менялся (АРС = –3,3 (–14,72–8,06) % в год). С 2019 год отмечается выравнивание показателей морбидности у городских и сельских жителей. Так, у жительниц города отмечается рост заболеваемости с ($10,74 \pm 2,67$) ‰ в 2019 году до ($15,08 \pm 3,19$) ‰ в 2022 году, а у жительниц села отмечается спад с ($31,58 \pm 8,42$) ‰ до ($22,25 \pm 7,37$) ‰. Темпы прироста примерно одинаковые, но противоположны (10,1 (–2,44–22,58) % в год и –10,4 (–23,83–3,01) % в год соответственно). В сравнении с заболеваемостью РШМ у женщин европейских стран этот показатель в республике и в Гомельской области находится на высоком уровне. Например, в Финляндии частота рака шейки матки составляет 2,7 на 100 000 женщин и является одной из самых низких в мире.

Если рассматривать стандартизованный показатель заболеваемости раком шейки матки в Гомельской области и республике, то наметилась тенденция к ежегодному его снижению. Так в Республике Беларусь отмечается отрицательный тренд ($p < 0,001$), АРС = 1,21 (0,67–1,74) % в год. В Гомельской области ситуация не отличается: отрицательный тренд ($p = 0,005$), АРС = 2,23 (0,80–0,64) % в год (рисунок 3).

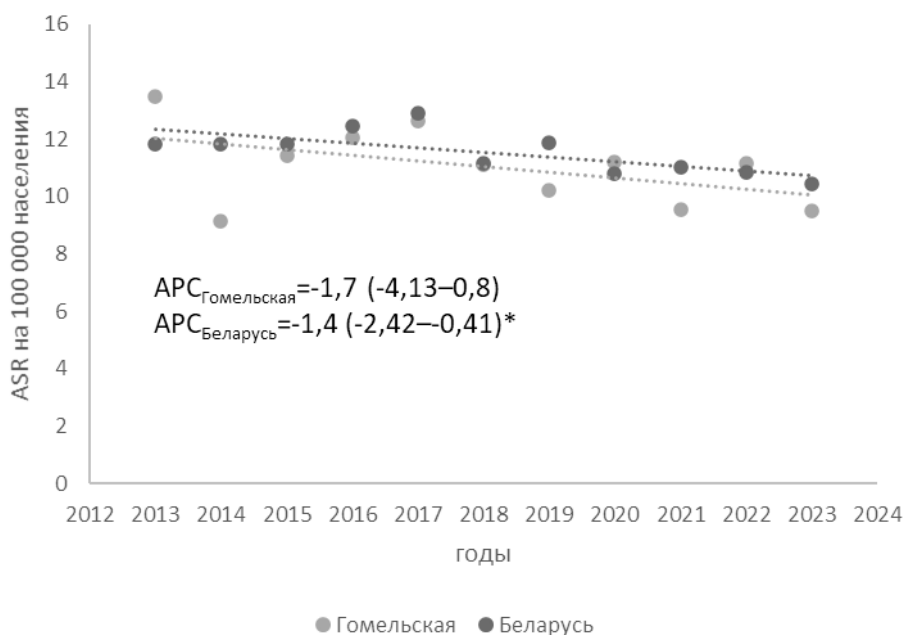


Рисунок 3 – Динамика стандартизованных по возрасту показателей заболеваемости РШМ в Республике Беларусь и Гомельской области за период с 2013 по 2022 год

Из рисунка 3 видно, что можно говорить об общем тренде, поскольку тест о параллельности трендов не показал статистических различий в APC ($p = 0,129$). И в Гомельской области, и в Республике Беларусь темпы снижения статистически не различались ($-1,7$ ($-4,13-0,8$) % в год и $-1,4$ ($-2,42-0,41$) % в год соответственно). Стандартизованные показатели в Беларуси и Гомельской области практически не различались, значимые различия были отмечены только в 2014 году.

Во всех районах Гомельской области в период с 2013 по 2022 год заболеваемость злокачественными опухолями шейки матки находится на стабильно высоком уровне, особенно в районах, пострадавших от аварии на ЧАЭС. Грубый интенсивный показатель заболеваемости РШМ по районам области варьировал от $10,1 \text{ ‰}$ в Светлогорском районе до $30,3 \text{ ‰}$ в Брагинском районе (рисунок 4). Высокие уровни CR РШМ отмечены в Брагинском, Лоевском, Кормяном, Хойникском, Буда-Кошелевском и Лельчицком районах, а наименьшие – в Светлогорском, Мозырском, Калинковичском, Гомельском и Речицком районах.

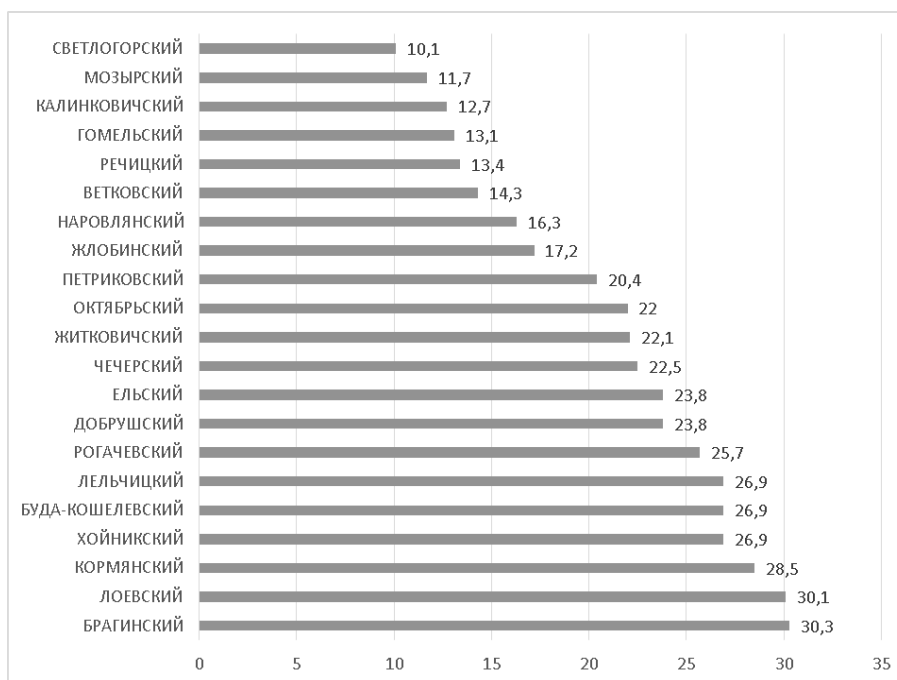


Рисунок 4 – Распределение грубых интенсивных показателей заболеваемости РШМ по районам Гомельской области за 2013–2022 гг.

Повозрастная структура заболеваемости за периоды 2013–2017 гг. и 2018–2022 гг. приведена в таблице 1. Из представленных данных видно, что наиболее уязвимыми к РШМ оказались женщины в возрастных группах 25–34 и 35–49 лет. В период 2018–2022 гг. отмечена тенденция к увеличению этих показателей для тех же возрастных групп у жительниц села. Так, в 2013–2017 гг. в группе 25–34 года показатель morbidity составил 25,8 (16,9–37,8) $\%_{0000}$, а в группе 35–49 лет – 40,3 (31,3–51,1) $\%_{0000}$ в 2018–2022 гг. – 36,9 (24,9–52,7) $\%_{0000}$ и 41,6 (32–53,1) $\%_{0000}$ соответственно. При этом заболеваемость статистически значимо выше была только у сельских жителей. Обращает внимание тот факт, что РШМ выявляется и в возрастной группе 15–24 года. За период 2013–2017 гг. AsR составил 1,1 (0,3–2,8) $\%_{0000}$, а за 2018–2022 гг. – 0,9 (0,2–2,8) $\%_{0000}$. Известно, что РШМ относится к нозологии злокачественных новообразований, которая удовлетворяет всем критериям проведения популяционного скрининга, имеет длительный период развития, от момента инфицирования ВПЧ до развития РШМ проходит от 5 до 10 лет. В связи с этим необходимо охватить цитологическим скринингом группу молодых женщин 15–24 года, чтобы предотвратить новые случаи РШМ, особенно у жителей села.

Таблица 1 – Повозрастные показатели заболеваемости РШМ (AsR (95% ДИ) $\%_{0000}$)

Период	Возраст	Гомельская область			Республика Беларусь
		Город	Село	Общая	
2013–2017	15–24	0,7 (0,1–2,4)	2,8 (0,3–9,9)	1,1 (0,3–2,8)	1,2 (0,8–1,7)
	25–34	13,2 (10,1–17,0)	25,8 (16,9–37,8)*	15,5 (12,4–19,2)	11,2 (10,2–12,4)
	35–49	22,7 (19,2–26,8)	40,3 (31,3–51,1)*	26,5 (23,0–30,3)	29,7 (28,2–31,2)
	50 и старше	21,6 (18,9–24,6)	27,6 (22,9–33,0)	23,4 (21–25,9)	24,9 (24–25,9)
2018–2022	15–24	1,2 (0,2–3,4)	0 (0–6,2)	0,9 (0,2–2,8)	0,6 (0,3–1,1)
	25–34	8,1 (5,5–11,4)	36,9 (24,9–52,7)*	13 (10–16,6)	12,1 (11–13,4)
	35–49	20,4 (17,1–24,2)	41,6 (32,0–53,1)*	24,5 (21,2–28,1)	26,8 (25,5–28,3)
	50 и старше	18,7 (16,2–21,4)	28,4 (23,5–34,0)*	21,3 (19–23,7)	21,8 (21–22,8)

* различия достоверны между жителями города и села.

Рост заболеваемости отмечен в основном у молодых женщин, в том числе в возрастной группе моложе 34 лет, т. е. повышается в группе женщин раннего репродуктивного возраста. Полученные данные позволяют установить возраст для начала скрининга РШМ, а также обуславливают более активное внедрение программ первичной профилактики, особенно в сельской местности. Снижение числа РШМ зависит от широкого внедрения методов цитологического и молекулярно-генетического тестирования, что приведет к своевременному выявлению ранних форм злокачественных цервикальных новообразований.

Ежегодно по Республике Беларусь и в Гомельской области регистрируются случаи смерти от рака шейки матки. По данным GLOBOCAN, в 2020 году в мире стандартизированный по возрастной показатель смертности составил 7,3 на 100 тыс. женщин [1], что было выше, чем в Республике Беларусь ((4,05 ± 0,47) $\%_{0000}$) и в Гомельской области ((3,8 ± 1,12) $\%_{0000}$). Тенденции к росту смертности не отмечается ($APC_{\text{Гомельская}} = 0,8 (-3,65-5,25) \% \text{ в год}$ и $APC_{\text{Беларусь}} = -0,4 (-1,77-0,94) \% \text{ в год}$). В 2022 году CR показатели смертности в Гомельской области были (7,56 ± 2,0) $\%_{0000}$, а в Беларуси (6,71 ± 0,72) $\%_{0000}$ ($p > 0,05$). В Республике Беларусь за проанализированный период показатели смертности от РШМ в сравнении с Гомельской областью статистически значимо не различаются: в 2022 году $ASR_{\text{Беларусь}} = (3,95 \pm 0,45) \%_{0000}$ и $ASR_{\text{Гомельская}} = (4,62 \pm 1,27) \%_{0000}$.

Структура смертности анализировалась по возрастным группам за периоды 2013–2017 гг. и 2018–2022 гг. (таблица 2). Отмечена тенденция к увеличению смертности с возрастом. Единичные случаи смерти от РШМ уже регистрируются в группе 15–34 года: AsR были 1,6 (0,91–2,68) $\%_{0000}$ и 1,1 (0,52–2,15) $\%_{0000}$ в Гомельской области в 2013–2017 гг. и 2018–2022 гг. соответственно, не превышая значимо республиканские значения. При этом у сельских женщин показатель смертности был значимо выше, чем у городских, во всех возрастных группах, за исключением группы 50 лет и старше в 2013–2017 гг. Показатели смертности увеличиваются с возрастом у городского населения, тогда как у сельского населения наиболее высокая смертность отмечается в группе молодых женщин 35–49 лет.

Таблица 2 – Повозрастные показатели смертности РШМ (AsR (95% ДИ) $\%_{0000}$)

Период	Возраст	Гомельская область			Республика Беларусь
		город	село	общая	
2013–2017	15–34	0,8 (0,29–1,74)	5,2 (2,37–9,85)*	1,6 (0,91–2,68)	1,2 (0,94–1,49)
	35–49	5,4 (3,77–7,61)	15,4 (10,06–22,56)*	7,6 (5,77–9,73)	9,4 (8,59–10,28)
	50 и старше	9,8 (8,01–11,85)	12,4 (9,34–16,22)	10,6 (8,98–12,33)	10,8 (10,17–11,46)
2018–2022	15–34	0,2 (0–0,85)	5,7 (2,45–11,17)*	1,1 (0,52–2,15)	1,1 (0,86–1,44)
	35–49	7,3 (5,34–9,66)	16,2 (10,51–23,98)*	9,0 (7,03–11,32)	7,7 (6,99–8,5)
	50 и старше	8,7 (7,06–10,61)	14,2 (10,78–18,34)*	10,2 (8,63–11,91)	10,8 (10,17–11,44)

* различия достоверны между жителями города и села.

Заключение. Таким образом, анализ эпидемиологических данных показал рост заболеваемости РШМ у женщин Гомельской области, проживающих в сельской местности с 2014 по 2019 год. Пик заболеваемости РШМ приходится на женщин репродуктивного возраста (35–49 лет) и отмечается достаточно высокая заболеваемость молодых женщин в возрасте 25–34 года. Это ведет к достаточно высокому показателю смертности среди молодых женщин, особенно в сельской местности, где уровень диспансерных осмотров ниже, чем в городах. РШМ – потенциально предотвратимое заболевание, распространение которого можно снизить при активном выявлении и лечении дисплазии шейки матки и профилактики ВПЧ. Полученные эпидемиологические данные подчеркивают необходимость повышения эффективности скрининговых и профилактических осмотров женщин, особенно в сельской местности. Высока необходимость проведения активной просветительской работы с населением на разных уровнях для привлечения женщин (особенно раннего репродуктивного возраста) к ежегодным профилактическим осмотрам для своевременного выявления патологии шейки матки на ранних этапах и снижения смертности от рака шейки матки. Широкое внедрение программы цитологического и молекулярно-генетического скрининга в сочетании с проведением вакцинации против вируса папилломы человека будут иметь ключевое значение для снижения заболеваемости РШМ и смертности от него в ближайшие годы.

Литература

1. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / H. Sung, J. Ferlay, R. L. Siegel [et al.] // *CA a Cancer Journal for Clinicals*. – 2021 – Vol. 71, № 3. – P. 209–249.
2. Эпидемиологические особенности генитальной папилломавирусной инфекции и рака шейки матки в Республике Беларусь и Гомельской области (1995–2014 гг.) / В. Н. Беляковский, Е. В. Воропаев, А. Н. Волченко, С. В. Стасенкова // *Проблемы здоровья и экологии*. – 2015. – № 4. – С. 20–28.
3. Абрамовских, О. С. Папилломавирусная инфекция урогенитального тракта: эпидемиологические аспекты (обзор) / О. С. Абрамовских, В. Ф. Долгушина, Л. Ф. Телешева [и др.] // *Гинекология*. – 2016. – Т. 18, № 2. – С.34–39.

Lohinava O. P.¹, Shevchenko N. I.¹, Veyalkin I. V.¹, Gasich E. L.²

EPIDEMIOLOGICAL ASPECTS OF THE PREVALENCE OF THE CERVICAL CANCER IN THE GOMEL REGION

¹State Institution «Republican Scientific and Practical Center for Radiation Medicine and Human Ecology», Gomel, Belarus

²State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

The article presents information on the incidence and mortality of cervical cancer in the Gomel region for the period from 2013 to 2022. In the structure of female morbidity in the Gomel region, cervix cancer ranked 11th in 2022 (2.65 %). The incidence of cervical cancer in rural women increased from $(13.99 \pm 5.38) \%_{0000}$ in 2014 to $(31.58 \pm 8.42) \%_{0000}$ in 2019 with a decrease by 2022 of $(22.25 \pm 7.37) \%_{0000}$. When studying age-specific rates of cervical cancer cases, it was found that the maximum incidence levels were observed in the 35–49 age group – $41.6 (32.0–53.1) \%_{0000}$ in rural residents significantly higher than in urban ones. The high mortality rate among young women, especially in rural areas, is alarming. In the

Republic of Belarus, as in the Gomel region, there is a in age-standardized morbidity rates equally decrease: (-1.4 (-2.42-0.41) % and -1.7 (-4.13-0.8) % per year respectively. Thus, the epidemiological data highlights the necessity to improve the effectiveness of screening and preventive examinations of women, especially in rural areas.

Keywords: cervical cancer, incidence, mortality, epidemiology.

References

1. Sung H., Ferlay J., Siegel R. L. et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2021; 71(3): 209–49.
2. Belyakovskiy V. N., Voropayev E. V., Volchenko A. N., Stasenkov S. V. The epidemiological features of genital human papillomavirus infection and cervical cancer in the Republic of Belarus and Gomel region (1995–2014). *Prob Health Ecol.* 2015; 4: 20–8. (in Russian)
3. Abramovskiy O. S., Dolgyshina V. F., Telesheva L. F. et al. Papillomavirus infection of the urogenital tract: Epidemiological aspects (review). *Gynecology.* 2016; 18(2): 34–9. (in Russian)

e-mail для переписки: gal301@mail.ru

Поступила 09.10.2024

УДК 616.915-036(476)“2023”

Самойлович Е. О., Семейко Г. В., Ермолович М. А., Коломиец Н. Д.¹, Высоцкая В. С., Игнатов К. О.

КОРЬ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ В 2023 ГОДУ

*Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии
и общественного здоровья», г. Минск, Беларусь*

*¹Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Беларусь*

Аннотация. В статье представлена информация по эпидемиологической ситуации по кори в Республике Беларусь. Показано, что, несмотря на отсутствие эндемичной циркуляции вируса кори, периодически регистрируются подъемы заболеваемости, связанные с его завозом, что требует проведения постоянного эпидемиологического слежения за этой инфекцией. В течение 2023 г. в Республике Беларусь было выявлено 193 случая кори, 188 получили лабораторное подтверждение диагноза с использованием серологических и/или молекулярных методов, 5 являлись эпидемиологически связанными с лабораторно подтвержденными случаями. По эпидемиологическим данным, 22 из 193 случаев (11,4 %) являлись завозными. Среди заболевших дети до 18 лет составили 42,0 % (81 ребенок), из них 65 (80,2 %) не были привиты против кори (21 ребенок не достиг возраста введения первой дозы вакцины, 32 – не привиты по причине отказа родителей от вакцинации). Результаты генотипирования вирусов кори от 31 пациента показали, что все они относились к генотипу D8, двум его генетическим линиям – D8, *Rudaki* (генетические варианты 8248 и 8459) и D8, *Victoria* (генетический вариант 8422). Доминирующим являлся генетический вариант 8248, к нему принадлежало 25 из 31 (80,6 %) секвенированного вируса.

Ключевые слова: корь, заболеваемость, лабораторная диагностика, молекулярно-эпидемиологический мониторинг.

Введение. В Европейском регионе ВОЗ после крупной вспышки кори в 2018 г. (83 540 случаев) и 2019 г. (104 248 случаев), с началом пандемии COVID-19 заболеваемость корью значительно снизилась (2020 г. – 12 204 случая, 2021 г. – 159 случаев). Однако уже в 2022 г. наметился рост заболеваемости (945 случаев) [1]. Существенный рост заболеваемости корью в регионе был отмечен в 2023 г.: 60 860 случаев, корь регистрировалась в 41 из 53 стран региона. Этот рост продолжился и в 2024 г., за первый квартал которого было зарегистрировано 56 634 случая кори [2].

В Республике Беларусь вакцинация против кори детей с использованием одной дозы вакцины выполняется с 1967 г., с 1987 г. вакцинация осуществляется по двухдозовой схеме (в 12 месяцев и 6 лет). Достигаются высокие показатели охвата вакцинацией. И тем не менее на фоне спорадической заболеваемости корью периодически случаются ее подъемы, как правило, связанные с неблагополучной

ситуацией по этой инфекции в соседних странах. На протяжении двух последних десятилетий годами подъема заболеваемости были 2006 (149 случаев), 2011 (51 случай), 2014 (64 случая), 2018 (259 случаев), 2019 (201 случай) [3, 4]. Очередной подъем заболеваемости корью отмечался и в 2023 г.

К настоящему времени все шесть регионов ВОЗ утвердили цели по элиминации кори, в пяти регионах, в том числе Европейском, наряду с элиминацией кори, ставится цель элиминации краснухи. Элиминация определяется как отсутствие эндемичных случаев кори на определенной географической территории в течение не менее 12 месяцев, при наличии хорошо функционирующей системы эпидемиологического надзора. Элиминация может быть верифицирована при отсутствии эндемичных случаев кори в течение не менее 36 месяцев. Достижение статуса элиминации не исключает появления завозных случаев, но завезенный вирус не должен циркулировать в стране более 12 месяцев [5].

Для установления того, добилась ли страна или регион элиминации кори, созданные региональные комиссии по верификации элиминации рассматривают данные по пяти направлениям: эпидемиология заболевания, популяционный иммунитет, качество эпидемиологического надзора, устойчивость программы элиминации и данные о генотипировании вируса кори, что позволяет провести комплексную, основанную на объективных данных оценку эффективности выполнения программы элиминации и потенциала страны в отношении поддержания статуса элиминации в будущем.

Европейская региональная комиссия по верификации элиминации кори и краснухи начала свою работу в 2012 г. С начала работы Республика Беларусь расценивается комиссией как страна, достигшая элиминации обеих инфекций.

Цель работы – анализ эпидемиологической ситуации по кори в Республике Беларусь в 2023 г.

Материалы и методы. При проведении лабораторного обследования подозрительных на корь лиц в соответствии с рекомендациями ВОЗ основным методом было выявление специфических Ig M антител в иммуноферментном анализе (далее – ИФА) [6]. Обнаружение РНК вируса кори в носоглоточном мазке и (или) моче в диагностической ОТ-ПЦР в реальном времени использовали в первую очередь для вакцинированных ранее пациентов, у которых результаты исследования Ig M антител были отрицательными или сомнительными, а также для пациентов с неустановленным источником инфицирования с целью последующего секвенирования фрагмента вирусного генома и генотипирования вируса кори для установления его происхождения и расшифровки цепочек передачи.

Антитела класса Ig M к вирусу кори определяли с использованием иммуноферментных тест-систем производства ОА «Вектор-БЕСТ» (Российская Федерация).

Выделение вирусной РНК из клинического материала выполняли с помощью набора «АртРНК MiniSpin» (АртБиоТех, Беларусь). РНК вируса кори определяли методом диагностической одностадийной ОТ-ПЦР в режиме реального времени [7], для целей генотипирования выполняли амплификацию фрагмента N гена длиной 450 п. о. с помощью одностадийной ОТ-ПЦР с электрофоретической детекцией продуктов реакции [8] с последующим секвенированием. Секвенирование выполняли в обоих направлениях с использованием набора BigDye Terminator v.3.1 Cycle Sequencing kit (Life Technologies, США) на капиллярном секвенаторе 3500 (Life Technologies, США).

Результаты и их обсуждение. Первый случай кори в 2023 г. был зарегистрирован в феврале, после отсутствия выявления таких случаев на протяжении 20 месяцев, с мая 2021 г. Всего в 2023 г. было зарегистрировано 193 случая кори (рисунок 1).

Корь регистрировалась во всех 7 регионах Республики Беларусь (Брестская область – 18, Витебская – 17, Гомельская – 8, Гродненская – 2, Минская – 15, Могилевская – 29, г. Минск – 104 случая).

Случаи заболевания корью регистрировались в течение года, за исключением января и сентября. В феврале и октябре зарегистрировано по одному спорадическому случаю кори. Подъемы заболеваемости имели место дважды в течение года: первый наблюдался с марта по август, второй – с ноября по декабрь (рост заболеваемости продолжился и в 2024 г.).

Среди 193 зарегистрированных случаев кори 188 получили лабораторное подтверждение, 5 являлись эпидемиологически связанными с лабораторно подтвержденными случаями. Для 144 из 188 (76,6 %) лабораторно подтвержденных случаев выявление Ig M к кори стало единственным методом подтверждения диагноза, в 38 случаях (20,0 %) с отрицательными либо сомнительными значениями Ig M диагноз был подтвержден выявлением РНК вируса кори в ПЦР, 4 случая (2,1 %) были подтверждены выявлением Ig M и РНК вируса кори и в 2 случаях (1,1 %) были выявлены Ig M антитела, но не обнаружена РНК вируса.

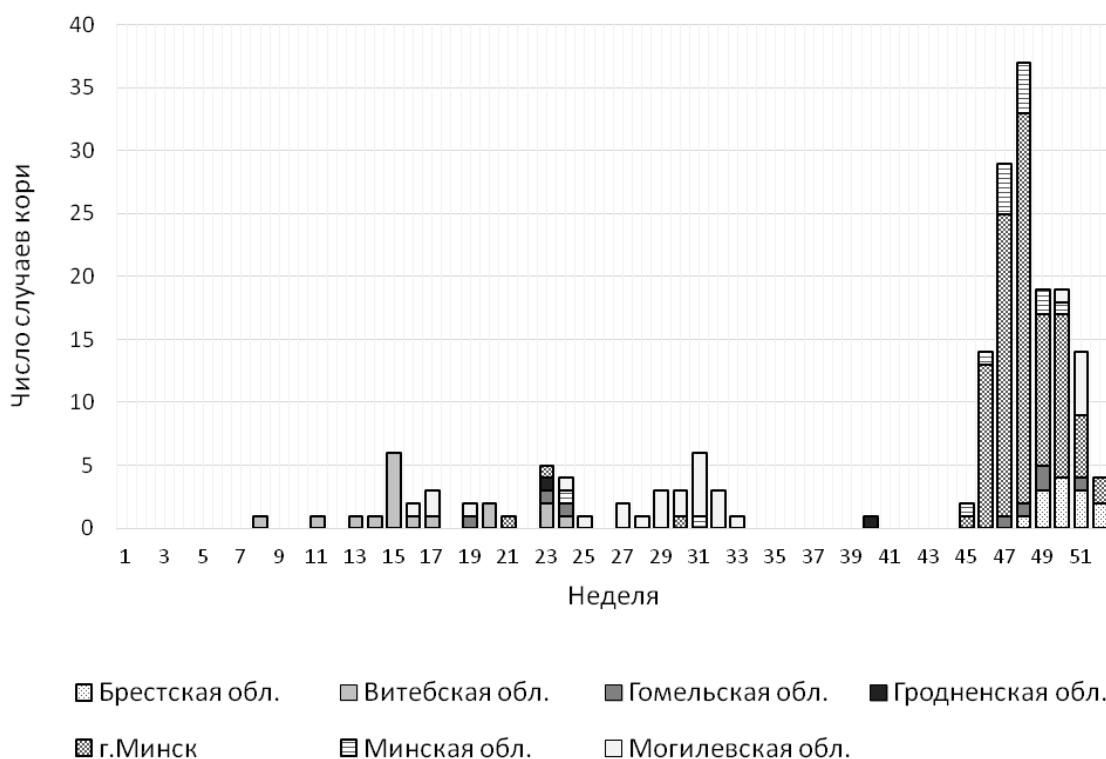


Рисунок 1 – Понедельная регистрация случаев кори в Республике Беларусь в 2023 г.

Корь в 2023 г. регистрировалась в различных возрастных группах. Дети в возрасте до 18 лет составили 42,0 % заболевших (81 человек), из них 21 ребенок был в возрасте до 1 года и еще не успел получить первую дозу вакцины. До 24 недели года (до середины июня) дети не вовлекались в эпидемический процесс кори, с 24 по 32 неделю корью заболели 5 детей, что составило лишь 10 % от всех заболевших за первые 32 недели года (до середины августа 2023 г.). Активное вовлечение детей в эпидемический процесс кори началось с 45 недели (в начале ноября) и сохранялось до конца года.

Взрослые 18 лет и старше составили 58,0 % заболевших (112 человек). Наиболее часто среди взрослых корь регистрировалась в возрастных группах 20–29 лет (26 случаев), 30–39 лет (39 случаев) и 40–49 лет (27 случаев). Самому старшему заболевшему в 2023 г. было 72 года, что превысило возраст наиболее возрастных заболевших в предыдущие подъемы заболеваемости корью в Республике Беларусь (самый старший заболевший корью в 2006 г. был в возрасте 46 лет, в 2011 г. – 54 года, в 2014 г. – 59 лет, в 2018 г. – 65 лет).

Анализ прививочного статуса заболевших детей показал, что 65 (80,2 %) не были привиты против кори (21 – не привиты по возрасту, 4 – имели противопоказания к вакцинации, 32 – отказ от прививок, 8 – по неизвестным причинам), что и стало основной причиной распространения кори среди детей. Только 19,8 % (16 из 81) заболевших детей были вакцинированы (4 – с использованием одной дозы вакцины, 12 – с использованием 2 доз).

Согласно данным прививочной документации, 40 из 112 (35,7 %) заболевших взрослых были ранее вакцинированы с использованием 2 дозы вакцины, 16 (14,3 %) – с использованием 1 дозы.

Несмотря на то что вакцинация против кори проводится с использованием живой вакцины (монокомпонентной или в составе комбинированной трехвалентной вакцины против кори, эпидемического паротита и краснухи), а живые вакцины относятся к наиболее иммуногенным, первичные вакцинальные неудачи, когда защитные антитела в ответ на вакцинацию не вырабатываются, а также вторичные вакцинальные неудачи, когда поствакцинальный иммунитет ослабевает с возрастом, описаны в литературе [9]. Требуется дальнейшее изучение причин вовлечения привитых лиц в эпидемический процесс кори.

Результаты генотипирования вирусов кори от 31 пациента показали, что все они относились к генотипу D8, двум его генетическим линиям – D8, *Rudaki* (два генетических варианта – 8248 и 8459) и D8, *Victoria* (генетический вариант 8422). Наиболее широкое распространение получил генетический вариант 8248, к нему принадлежало 25 из 31 (80,6%) секвенированного вируса. Из 11 вирусов кори от завозных случаев заболевания 10 принадлежали к доминирующему варианту.

Полученные данные отличаются от результатов генотипирования 2019 г., когда на территории страны были выявлены вирусы кори 10 генетических вариантов. Несомненно, мониторинг циркуляции вируса занимает важное место в системе эпидемиологического надзора. Однако в последние годы генетическое разнообразие выявляемых в мире вирусов кори существенно снизилось. В настоящее время циркулируют только 2 из 24 известных генотипов вируса кори. С одной стороны, это свидетельствует о значительных успехах в элиминации кори и о возможности ликвидации этой инфекции в глобальном масштабе. С другой стороны, уменьшение генетического разнообразия циркулирующих вирусов затрудняет отслеживание путей их трансмиссии и дифференциацию цепочек передачи. В 2023 г. в связи с завозами на территорию Республики Беларусь преимущественно одного генетического варианта вируса кори ведущая роль в расшифровке цепочек передачи принадлежала эпидемиологическим данным. В дальнейшем требуется расширение окна секвенирования вируса кори и включение в генетический анализ не только фрагмента N гена длиной 450 п. о., но и других областей генома.

С учетом эпидемиологических данных и результатов генотипирования 11,4 % зарегистрированных случаев кори были квалифицированы как завозные (выявлены завозы из России, Египта, Польши, Китая / России и Шри-Ланки), 79,3 % – как связанные с завозными и 9,3 % отнесены к случаям неизвестного происхождения. Эндемичных случаев заболевания корью в 2023 г. выявлено не было. К случаям неизвестного происхождения были отнесены спорадические случаи кори и случаи из двух цепочек передачи, для которых источник инфекции установить не удалось. Нельзя исключить, что для большинства из них инфицирование произошло на территории Республики Беларусь, поскольку вирусы этого генотипа циркулировали на тот момент времени в стране.

Вспышка кори, начавшаяся в ноябре, была классифицирована как имеющая завозной характер. Несмотря на то что завозной характер первого случая подтвердить не удалось, в том числе с использованием молекулярных методов расследования, в пользу этого свидетельствуют эпидемиологические данные. Возникновение практически одновременно 14 случаев кори в г. Минске у лиц, посещавших крупный торгово-развлекательный центр в период длинных выходных, где в это время находилось много граждан Российской Федерации, а также интервал длительностью 5 недель между предыдущим спорадическим случаем кори, выявленным в октябре, и подъемом заболеваемости с ноября, при постоянном проведении лабораторного обследования подозрительных на корь лиц в этот период, свидетельствует о том, что она связана с новым завозом вируса кори.

Всего в 2023 г. выявлено шесть цепочек передачи вируса кори, включавших 170 случаев. Пять из шести цепочек передачи (за исключением первой цепочки) были вызваны геновариантом 8248. Данные эпидемиологического расследования каждого случая кори, а также результаты, свидетельствующие о стабильно высоком качестве надзора за кореподобными заболеваниями в течение всего года, позволяют утверждать, что подъем заболеваемости, произошедший в ноябре, не имел связи со вспышкой кори, имевшей место в марте – августе.

Полученные данные за 2023 г. были направлены в Европейскую региональную комиссию по верификации элиминации кори и краснухи и находятся на стадии рассмотрения. Следует отметить, что достижение статуса элиминации кори или краснухи подразумевает, что эндемичная передача вируса была ликвидирована, но не сама инфекция. Завозные случаи при этом могут регистрироваться, но продолжительность циркуляции завезенного вируса не должна превышать 12 месяцев [5].

Европейская региональная комиссия по верификации элиминации кори и краснухи в своих документах подчеркивает необходимость продолжать расследование подозрительных на корь и краснуху случаев и исключать их как эти инфекции только путем своевременного эпидемиологического расследования и лабораторного тестирования. Использование наиболее чувствительного подхода (например, рассмотрение в качестве предполагаемых случаев любых пациентов с лихорадкой и макулопапулезной (невезикулярной) сыпью или у которых медицинский работник подозревает корь или краснуху) может помочь в своевременном выявлении и реагировании на случаи; в профилактике и контроле вспышек; в определении и выявлении существующих восприимчивых групп населения и предоставлении им услуг по иммунизации [10]. В Республике Беларусь показатель выявления подозрительных случаев, исключенных как корь или как краснуха на основании результатов лабораторных исследований, полностью соответствует критериям ВОЗ (не менее 2 на 100 000 населения). В 2023 г. этот показатель составил 4,6 на 100 000 населения. После достижения элиминации поддержание высокой чувствительности надзора необходимо для предоставления доказательств того, что в случае возникновения заболевших корью или краснухой они будут выявлены и будут своевременно приняты меры по недопущению дальнейшего распространения инфекции.

Заключение. 2023 г. ознаменовался ростом заболеваемости корью в Республике Беларусь. Корь регистрировалась во всех регионах страны. Рост заболеваемости был обусловлен многочисленными завозами вируса кори из-за рубежа, что привело к ограниченному его распространению. Среди заболевших 42,0 % составили дети до 18 лет, 58,0 % – взрослые. Заболевшие дети в основном (80,2%) не были привиты против кори (из них 25,9 % не достигли возраста введения первой дозы вакцины, 39,5 % – не привиты по причине отказа от вакцинации). Среди заболевших взрослых 35,7 % получили 2 дозы вакцины. Первичные либо вторичные поствакцинальные неудачи стали причиной отсутствия иммунитета к кори – этот вопрос требует дальнейшего изучения. Низкое генетическое разнообразие вируса кори в настоящее время затрудняет дифференциацию цепочек передачи и осложняет получение доказательств статуса элиминации кори. Требуется расширение окна секвенирования вируса кори для получения дополнительной информации по его генетической variability.

Литература

1. Эпидемиологическая оценка отдельных заболеваний, предотвращаемых вакцинацией // Эпидемиологическая справка ВОЗ. – 2023. – № 2. – URL: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/373574/WHO-EURO-2023-8231-48003-71311-rus.pdf?sequence=1> (дата обращения: 09.10.2024).
2. Ежемесячная сводка эпидемиологических данных об отдельных управляемых инфекциях в Европейском регионе ВОЗ // Эпидемиологические данные ВОЗ. – 2024. – № 4. – URL: <https://www.who.int/europe/ru/publications/m/item/epidata-4-2024> (дата обращения: 09.10.2024).
3. Outbreak of measles in Belarus, January-June 2006 / E. O. Samoilovich, M. A. Yermalovich, G. V. Semeiko [et al.] // *Euro Surveill.* – 2006. – Vol. 11, № 7. – DOI: 10.2807/esw.11.30.03011-en.
4. Достижения в элиминации кори и краснухи в Республике Беларусь / Е. О. Самойлович, Г. В. Семейко, М. А. Ермолович [и др.] // *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* – 2016. – Т. 15, № 4. – С. 94–99.
5. Eliminating measles and rubella: framework for the verification process in the WHO European Region 2014 / World Health Org. – Copenhagen : WHO, 2014. – 28 p. – URL: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/350499/WHO-EURO-2014-4528-44291-62561-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (date of access: 13.08.2024).
6. Manual for the Laboratory-based Surveillance of Measles, Rubella, and Congenital Rubella Syndrome / WHO Regional Office for Europe. – Chap. 1. – URL: <https://www.who.int/publications/m/item/chapter-1-manual-for-the-laboratory-based-surveillance-of-measles-rubella-and-congenital-rubella-syndrome> (date of access: 09.10.2024).
7. Development of quantitative gene-specific real-time RT-PCR assays for the detection of measles virus in clinical specimens / K. B. Hummel, L. Lowe, W. J. Bellini, P. A. Rota // *Journal of Virological Methods.* – 2006. – Vol. 132, № 1-2. – P. 166–173.
8. Improving molecular tools for global surveillance of measles virus / B. Bankamp, L. A. Byrd-Leotis, E. N. Lopareva [et al.] // *Journal of Clinical Virology.* – 2013. – Vol. 58, № 1. – P. 176–182.
9. Laboratory characterization of measles virus infection in previously vaccinated and unvaccinated individuals / C. J. Hickman, T. B. Hyde, S. B. Sowers [et al.] // *The Journal of Infectious Diseases.* – 2011. – Vol. 204, suppl. 1. – P. 549–558.
10. Twelfth meeting of the European regional verification commission for measles and rubella elimination: 8–11 September 2023, Copenhagen, Denmark. – Copenhagen : WHO Regional Office for Europe, 2024. – 30 p.

Samoilovich E. O., Semeiko G. V., Yermalovich M. A., Kolomiets N. D.¹, Vysotskaya V. S., Ignatov K. O.

MEASLES IN THE REPUBLIC OF BELARUS IN 2023

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

¹Educational Institution «Belarusian State Medical University», Minsk, Belarus

Information on the epidemiological situation of measles in the Republic of Belarus is presented. It has been shown that despite the absence of endemic circulation of measles virus, the rises in incidence rate associated with virus importation are periodically recorded, that requires ongoing surveillance of the infection. In 2023, in total 193 measles cases were identified in the Republic of Belarus, 188 of them get laboratory confirmation using serological and/or molecular methods, 5 cases were epidemiologically linked to laboratory confirmed cases. According to epidemiological data, 22 out of 193 (11.4 %) cases were imported. Among 193 measles cases the children under 18 years old accounted for 42.0 % (81 children), of which 65 (80.2 %) were not vaccinated against measles (among them 25.9 % did not reach the age of the first

dose of the vaccine, 39.5 % due to parental refusal from vaccination). Genotyping of measles viruses from 27 patients showed that all of them belonged to genotype D8 and were represented by its three genovariants: 8248, 8459, 8422. The dominant genovariant was 8248 (77,7 % of strains).

Keywords: measles; incidence rate; laboratory diagnostics; molecular epidemiological monitoring.

References

1. Epidemiological assessment of selected vaccine-preventable diseases. *Epidemiologist. WHO certificate*. 2023; 2. Available at: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/373367/WHO-EURO-2023-8231-48003-71091-eng.pdf?sequence=1> (accessed 09 October 2024). (in Russian)
2. Monthly summary of epidemiological data on selected vaccine-preventable diseases in the WHO European Region. *Epidemiologist. WHO data*. 2024; 4. Available at: <https://www.who.int/europe/publications/m/item/epidata-4-2024> (accessed 09 October 2024). (in Russian)
3. Samoilovich E. O., Yermalovich M. A., Semeiko G. V. et al. Outbreak of measles in Belarus, January-June 2006. *Euro Surveill*. 2006; 11(7). DOI: 10.2807/esw.11.30.03011-en.
4. Samoilovich E. O., Semeiko G. V., Yermalovich M. A. et al. Achievements in measles and rubella elimination in the Republic of Belarus'. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika*. 2016; 15(4): 94–9. (in Russian)
5. Eliminating measles and rubella: framework for the verification process in the WHO European Region 2014. Copenhagen: WHO; 2014. URL: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/350499/WHO-EURO-2014-4528-44291-62561-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (date of access: 13.08.2024).
6. Manual for the Laboratory-based Surveillance of Measles, Rubella, and Congenital Rubella Syndrome. WHO Regional Office for Europe. 2018. Chap. 1. Available at: <https://www.who.int/publications/m/item/chapter-1-manual-for-the-laboratory-based-surveillance-of-measles-rubella-and-congenital-rubella-syndrome> (accessed 09 October 2024).
7. Hummel K. B., Lowe L., Bellini W. J., Rota P. A. Development of quantitative gene-specific real-time RT-PCR assays for the detection of measles virus in clinical specimens. *J of Virol Methods*. 2006; 132(1-2): 166–73.
8. Bankamp B., Byrd-Leotis L. A., Lopareva E. N. et al. Improving molecular tools for global surveillance of measles virus. *J of Clin Virol*. 2013; 58(1): 176–82.
9. Hickman C. J., Hyde T. B., Sowers S. B. et al. Laboratory characterization of measles virus infection in previously vaccinated and unvaccinated individuals. *J of Infect Dis*. 2011; 204(Suppl. 1): 549–58.
10. Twelfth meeting of the European regional verification commission for measles and rubella elimination: 8–11 September 2023, Copenhagen, Denmark. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2024.

e-mail для переписки: esamoilovich@gmail.com.

Поступила 10.10.2024

УДК 616.34-022-06-005.6-053.2-07

Семейко Г. В., Самойлович Е. О., Ермолович М. А., Романова О. Н.¹, Байко С. В.¹

СПЕКТР ЭНТЕРОПАТОГЕНОВ У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМИ КИШЕЧНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ И ПОСТДИАРЕЙНЫМ ГЕМОЛИТИКО-УРЕМИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Беларусь,

¹ Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Беларусь

Аннотация. С помощью количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени с использованием 384-луночных микропроточных карт TaqMan Array Card удалось оценить наличие генетического материала 34 энтеропатогенов (вирусы, бактерии, простейшие, гельминты) в образцах фекалий 156 госпитализированных детей с острой кишечной инфекцией (далее – ОКИ) и 92 пациентов с типичным гемолитико-уремическим синдромом (далее – тГУС). У детей с ОКИ энтеропатогены выявлены в 89,1 % случаев (139/156), доминирующим возбудителем являлся *Rotavirus* (89/157, 57,1 %). У детей с тГУС положительными оказались 67,4 % образцов (62/92), наиболее часто встречались диарейные *E. coli* (45/92, 48,9 %). В обеих группах обнаружены по 14 патогенов, которые присутствовали

в микст-варианте (2 и более) у 39,7 % пациентов с ОКИ (62/156) и у 21,7 % с тГУС (20/92) ($p < 0,001$). Среди 45 случаев выявления диареогенной *E. coli* при тГУС, в 88,9 % (40/45) идентифицированы гены шигатоксина (*stx*), что подтверждало диагноз STEC-ГУС. У детей с ОКИ диареогенные *E. coli* выявлены у 12,2 % обследованных (19/156), а *E. coli*, продуцирующая шигатоксин, выявлена у 15,8 % (3/19).

Ключевые слова: количественная ПЦР в реальном времени, энтеропатогены, дети, острые кишечные инфекции, гемолитико-уремический синдром.

Введение. Острые кишечные инфекции – полиэтиологичная группа инфекционных заболеваний, сопровождающаяся интоксикацией, нарушением моторики желудочно-кишечного тракта с развитием диареи и обезвоживания.

В соответствии с принятой классификацией диареи подразделяются по этиологическому принципу на бактериальные, вирусные, протозойные и глистные [1]. ОКИ отличаются высоким уровнем заболеваемости, чреватые своими осложнениями, являются основной причиной детской смертности. В мире ежегодно от кишечных инфекций и их осложнений умирают до 500 000 детей в возрасте до 5 лет [2].

Одним из неотложных состояний, которое может развиваться у детей с ОКИ и угрожает жизни ребенка, является гемолитико-уремический синдром (далее – ГУС). ГУС объединяет группу заболеваний, для которых характерна триада проявлений: острое почечное повреждение, гемолитическая анемия и тромбоцитопения. ГУС, который развивается после диареи, получил название типичный ГУС (тГУС). Чаще всего он вызывается шигатоксин-продуцирующей *Escherichia coli* (STEC) и тогда называется STEC-ГУС, реже *Shigella dysenteriae* 1-го типа. На долю тГУС приходится около 90 % всех случаев ГУС. Атипичный ГУС (далее – аГУС), который встречается значительно реже, обусловлен генетическими нарушениями белков системы комплемента [3].

Полиэтиологичность ОКИ делает их диагностику сложной задачей. Однако своевременная верификация их причины чрезвычайно важна, поскольку от ее результатов зависят объем, характер и эффективность проводимых клинических и противоэпидемических мероприятий. Трудности, а зачастую невозможность выявления всех патогенов в каждом конкретном случае ОКИ при применении традиционных методов обследования (бактериологический метод, ИФА) ограничивают расшифровку этиологического диагноза. Улучшение диагностики кишечных инфекций связано с применением молекулярных методов. Количественная ПЦР стала золотым стандартом этиологической диагностики причин диареи [4].

В нашем исследовании была использована инновационная разработка последних десятилетий – ПЦР в реальном времени с использованием микропроточных TaqMan Array cards (ТАС-карт), которые позволяют одновременно определять широкий спектр возбудителей в одном образце [5]. Карта представляет собой 384-луночную планшету, в лунки которой предварительно загружены лиофилизированные праймеры и зонды. Одна карта предназначена для исследования 8 образцов в 48 лунках с тестированием одной или двух мишеней в каждой из лунок.

Цель работы – определить спектр энтеропатогенов у госпитализированных детей с ОКИ и с тГУС, установить частоту выявления энтеропатогенов в моно- и микст-варианте с использованием микропроточных ТАС-карт, предназначенных для выявления генетического материала возбудителей кишечных инфекций в образцах фекалий.

Материалы и методы. В исследование включено 156 детей с ОКИ в возрасте от 1 месяца до 10 лет (медиана возраста 1,6 (0,9; 3,1) года), госпитализированных в городскую детскую инфекционную клиническую больницу г. Минска (ГДИКБ) в 2018–2022 гг. и 92 ребенка в возрасте 9 месяцев – 10 лет (медиана возраста 3,5 (2,0; 5,9) года) с тГУС, госпитализированных в Республиканский центр детской нефрологии и заместительной почечной терапии (РЦДНиЗПТ) на базе 2-й городской детской клинической больницы г. Минска в 2021–2023 гг. У 96,7 % детей (89/92) развитию тГУС предшествовала диарея.

От пациентов с ОКИ образцы стула были собраны в течение не позднее 2 дней после госпитализации, от пациентов с тГУС – в среднем в течение 2,7 дня после госпитализации в РЦДНиЗПТ. До начала исследования пробы хранились замороженными при -80°C .

Выделение тотальной нуклеиновой кислоты (РНК и ДНК) из образцов стула проводили с использованием набора QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit (Qiagen, Германия) с модификациями, включавшими предварительное механическое измельчение пробы при помощи стеклянных бусин и дополнительный этап инкубации в течение 5 мин при 95°C .

В качестве внешних контролей во все образцы вносили вирус герпеса тюленей (Phocine Herpes virus – ДНК) и фаг MS2 (РНК). Каждая партия образцов для экстракции также включала одну пробу отрицательного контроля для мониторинга загрязнения.

Детекцию ДНК/РНК кишечных патогенов выполняли с использованием набора реагентов AgPath-ID One Step RT-PCR Reagents (Applied Biosystems, США) на 384-луночных микропроточных картах TaqMan Array Card (Applied Biosystems, США) [5, 6]. Каждый образец был исследован на наличие генетических маркеров 34 патогенов, способных вызывать диарею, включая:

вирусы: *Adenovirus*, *Astrovirus*, *Norovirus*, *Rotavirus*, *Sapovirus*;

бактерии: *Aeromonas*, *Bacteroides fragilis*, *Campylobacter jejuni/coli*, *Clostridium difficile*, *Escherichia coli* (EAEC, ETEC, EPEC, STEC, EIEC), *Helicobacter pylori*, *Helicobacter nana*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Plesiomonas*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Salmonella*, *Vibrio cholerae*;

простейшие: *Blastocystis*, *Cryptosporidium hominis*, *Cryptosporidium parvum*, *Cyclospora*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia*, *Isospora*, *Microsporidia (Enterocytozoon bieneusi, Encephalitozoon intestinalis)*;

гельминты: *Ancylostoma*, *Ascaris*, *Necator*, *Hymenolepis nana*, *Schistosoma*, *Strongiloides*, *Trichuris*.

Используемый метод позволял дифференцировать пять диареегенных патотипов *E. coli*: ETEC – энтеротоксигенную *E. coli* (выявляли токсины *LT*, *STh*, *STp* и факторы адгезии и колонизации *CFA/I* и *CS1-CS6*), EPEC – энтеропатогенную *E. coli* (интимин *eae* и пучок-формирующие пили *bfpA*), EAEC – энтероагрегативную *E. coli* (факторы адгезии *aaiC*, *aatA*, *aar*, *aggR*), EIEC – энтероинвазивную *E. coli* (инвазин *ipaH*) и STEC – шигатоксин-продуцирующую *E. coli* (шигатоксин 1 и 2 типа – *stx1* и *stx2*).

Анализ данных выполняли с помощью программы QuantStudio Real-Time PCR software v 1.3 (Life Technologies, США). В соответствии с инструкцией производителя положительными считали образцы со значением порогового цикла (Ct) менее 35. Отрицательными результаты считались только тогда, когда соответствующий внешний контроль был положительным.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы Microsoft Excel.

Результаты и их обсуждение. При проведении исследования образцов стула от 156 детей с ОКИ с использованием ТАС-карт энтеропатогены были обнаружены в 89,1 % образцов (139 из 156). Всего были выявлены 14 возбудителей ОКИ, включая вирусы – *Adenovirus 40/41*, *Astrovirus*, *Norovirus*, *Sapovirus*, *Rotavirus*; бактерии – *Aeromonas*, *Bacteroides fragilis*, *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella flexneri*, *Clostridium difficile*, диареегенные *E. coli*, *Helicobacter pylori*; простейшие – *Blastocystis* (рисунок 1).

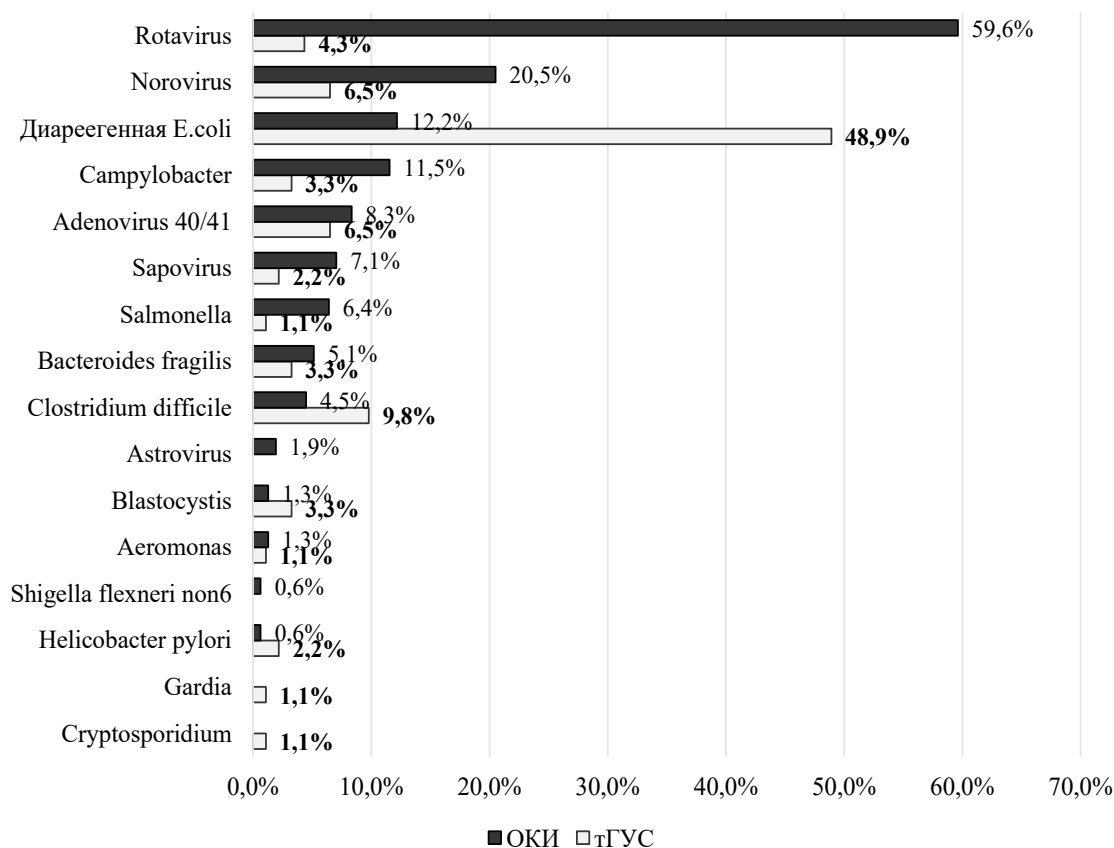


Рисунок 1 – Частота обнаружения энтеропатогенов у пациентов с ОКИ и с ТГС

Доминирующим кишечным патогеном у детей с ОКИ являлся *Rotavirus* (выявлен в 93 из 156 образцов (59,6 %)). Следующими по частоте выявления оказались *Norovirus* (32/20,5 %), диареегенные *E.coli* (19/12,2 %) и *Campylobacter* (18/11,5 %). Значимую долю составили *Adenovirus 40/41* (13/8,3 %), *Sapovirus* (11/7,1 %), *Salmonella* (10/6,4 %), *Bacteroides fragilis* (8/5,1 %) и токсин-продуцирующая *Clostridium difficile* (7/4,5 %). Остальные возбудители встречались существенно реже и были обнаружены у 1–3 пациентов.

Проведение исследования образцов стула от 92 детей с тГУС показало, что доля позитивных на энтеропатогены образцов составила 67,4 % (62 из 92). В этой группе пациентов также было выявлено 14 энтеропатогенов, их спектр во многом был схож с выявленным у пациентов с ОКИ за исключением того, что дополнительно обнаружены простейшие – *Cryptosporidium* и *Gardia* и не выявлены *Astrovirus* и *Shigella flexneri*.

Наиболее часто у детей с тГУС обнаруживались диареегенные *E. coli*, выявленные у 48,9 % обследованных (45/92). Значительно реже выявлялись *Clostridium difficile* (9/9,8 %), *Adenovirus 40/41* и *Norovirus* (по 6/6,5 %), *Rotavirus* (4/4,3 %). Такие патогены, как *Bacteroides fragilis*, *Campylobacter* и *Blastocystis*, встречались с частотой 3,3 % (по 3 заболевших), а остальные 6 возбудителей детектировались лишь у 1–2 заболевших детей.

В обеих группах обследуемых обнаруживались образцы, в которых было выявлено одновременное присутствие 2 и более патогенов. У детей с ОКИ доля таких образцов составила 39,7 % (62/156), а с тГУС – 21,7 % (20/92) ($p < 0,001$) (рисунок 2).

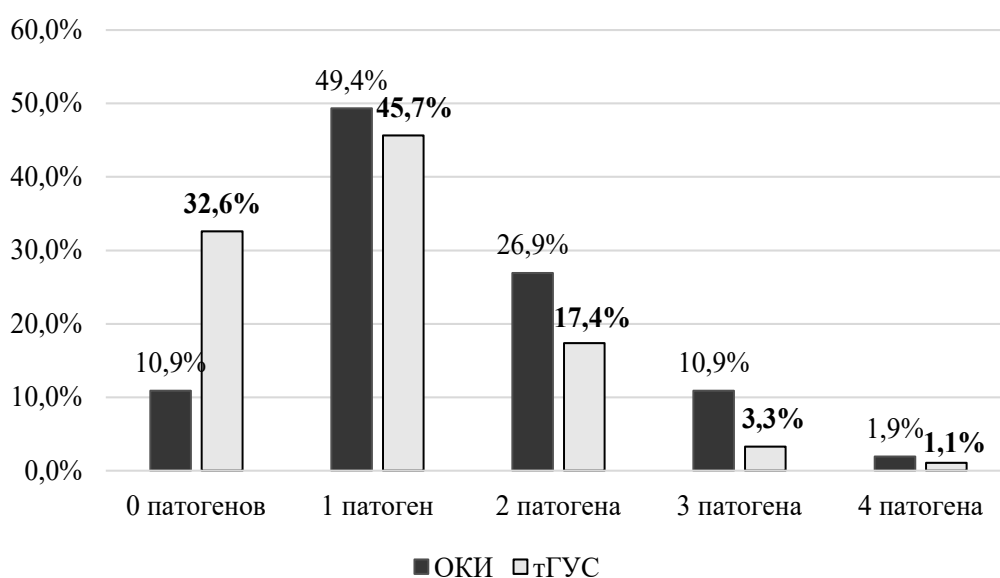


Рисунок 2 – Количество кишечных патогенов и частота их выявления в образцах стула у детей с ОКИ и с тГУС

Диареегенные *E. coli* в группе детей с ОКИ выявлены у 12,2 % (19/156) обследованных. Преобладали не шигатоксин-продуцирующие патотипы *E. coli* (16/19; 84,2 %), основную долю которых составили ЕРЕС (11/57,9 %), значительно реже встречались ЕАЕС (2/10,5 %), ЕТЕС (1/5,3 %) и их сочетания ЕРЕС/ЕАЕС и ЕРЕС/ЕТЕС (по 1 случаю / по 5,3 %). Только у 3 из 19 детей (15,8 %) с диареегенной *E. coli* была обнаружена шигатоксин-продуцирующая энтерогеморрагическая *E. coli* (ЕНЕС), которая продуцирует шигатоксин, а также интимин, характерный для ЕРЕС (таблица 1).

Таблица 1 – Разнообразие патотипов диареегенных *E. coli*, выявленных в образцах стула у детей с ОКИ и тГУС

Патотип <i>E.coli</i>	Дети с ОКИ		Дети с тГУС	
	кол-во	%	кол-во	%
ЕТЕС	1	5,3	–	–
ЕАЕС	2	10,5	2	4,4
ЕРЕС	11	57,9	3	6,7
СТЕС	–	–	11	24,4

Патотип <i>E.coli</i>	Дети с ОКИ		Дети с тГУС	
	кол-во	%	кол-во	%
ЕНЕС	3	15,8	15	33,3
ЕРЕС/ЕАЕС	1	5,3	–	–
ЕРЕС/ЕТЕС	1	5,3	–	–
СТЕС/ЕАЕС	–	–	3	6,7
ЕНЕС/ЕАЕС	–	–	7	15,6
ЕНЕС/ЕТЕС	–	–	2	4,4
СТЕС/ЕАЕС/ЕТЕС	–	–	1	2,2
ЕНЕС/ЕАЕС/ЕТЕС	–	–	1	2,2
Всего	19	100,0	45	100,0

В группе детей с тГУС диареегенные *E. coli* выявлены в 48,9 % случаев (45/92), что значительно превышало частоту выявления этого патогена у детей с ОКИ (12,2 % против 48,9 %, $p < 0,05$). Не шигатоксин-продуцирующие патотипы *E.coli* встречались лишь в 11,1 % случаев (5/45) (ЕРЕС – 3/6,7 %, ЕАЕС – 2/4,4 %), что было значительно меньше, чем у пациентов с ОКИ (84,2 % против 11,1 %; $p < 0,05$). Основная доля диареегенных *E. coli* у детей с тГУС содержала гены шигатоксина – 88,9 % образцов (40/45). Шигатоксин-продуцирующие варианты *E. coli* были представлены у 24,4 % (11/45) обследованных STEC, у 33,3 % (15/45) – ЕНЕС, у 31,1 % (14/45) – гибридными вариантами. Доминирующим гибридным вариантом являлся ЕНЕС/ЕАЕС, который выявлен у 7 заболевших, в 3 случаях обнаружена STEC/ЕАЕС, еще в 4 обнаружены оба гибридных варианта, характерные для ЕТЕС (ЕНЕС/ЕТЕС – 2, STEC/ЕАЕС/ЕТЕС – 1 и ЕНЕС/ЕАЕС/ЕТЕС – 1).

Применение микропроточных ТАС-карт с использованием высокочувствительного метода количественной ПЦР в реальном времени одновременно к широкому перечню возбудителей позволило выявить энтеропатогены у 89,1 % детей с ОКИ и у 67,4 % пациентов с тГУС. По данным официальной регистрации Российской Федерации, в среднем этиологическая причина ОКИ у детей устанавливается в 30–40 % случаев, использование молекулярных методов позволяет существенно повысить ее уровень [7]. Применение мультиплексных реакций на несколько патогенов позволяет выявлять случаи одновременного инфицирования несколькими возбудителями. В нашем исследовании частота выявления образцов, в которых присутствовал генетический материал двух и более патогенов, составила 39,7 % у детей с ОКИ и 21,7 % у пациентов с тГУС. Другие исследователи также отмечают высокую частоту встречаемости смесей патогенов у детей с инфекционными диареями [8]. Несомненно, молекулярные методы, обладающие высокой чувствительностью, способны выявить наличие генетического материала возбудителей в очень низкой концентрации (высокое значение Ct), которая возможно не всегда является клинически значимой. Требуются дополнительные исследования, направленные на определение количественных порогов обнаружения нуклеиновых кислот энтеропатогенов с целью определения их этиологической значимости. Такие работы в настоящее время проводятся нами и другими исследователями.

До проведения наших исследований установить этиологическую причину тГУС удавалось только 18 % случаев [9]. Применение серологических методов исследования, направленных на выявление антител к липополисахаридам *E. coli* (анти-ЛПС-антител), помогает существенно увеличить долю этиологически подтвержденных случаев эшерихиоза [10]. Считается, что наиболее эффективной стратегией для установления этиологии ГУС является применение комплекса серологических и молекулярных методов. Проведенные нами молекулярные исследования показали высокую частоту обнаружения у пациентов с тГУС диареегенной *E. coli*, продуцирующей шигатоксин (43,5 %), что сопоставимо с результатами ПЦР диагностики ГУС в специализированных европейских лабораториях.

Обнаружение в нашем исследовании значимого числа гибридных вариантов диареегенной *E. coli* определяет необходимость проведения более глубокого генетического анализа и сиквенс-типирования, в том числе и с использованием полногеномного секвенирования. Несомненную значимость будут иметь дополнительные исследования, направленные на выявление значимости других энтеропатогенов, обнаруженных у детей с тГУС, в моноварианте или в сочетании с *E. coli*.

Заключение. Таким образом, проведенное диагностическое исследование с использованием ТАС-карт образцов стула пациентов детского возраста с ОКИ позволило установить частоту встречаемости возбудителей вирусной, бактериальной, протозойной природы в моноварианте

и варианте различных их сочетаний. Доминирующим кишечным патогеном у детей с ОКИ являлся *Rotavirus* (59,6 %). Следующими по частоте выявления оказались *Norovirus* (20,5 %), диареогенные *E. coli* (12,2 %) и *Campylobacter* (11,5 %). Наличие 2 и более энтеропатогенов было выявлено у 39,7 % детей с ОКИ. Использование ТАС-карт оказалось высокоинформативным и для обследования детей с таким тяжелым осложнением, как тГУС. Это исследование позволило начать проведение молекулярной диагностики ГУС и выявить наличие шигатоксин-продуцирующей *E. coli* у 43,5 % детей с тГУС. Наряду с выявлением основного этиологического агента тГУС – STEC, метод позволил обнаружить другие патотипы диареогенных *E. coli* (EAEC, ETEC, EPEC, EIEC) и их гибридные варианты.

Литература

1. Hodges, K. Infectious diarrhea: cellular and molecular mechanisms / K. Hodges, R. Gill // *Gut Microbes*. – 2010. – Vol. 1, № 1. – P. 4–21.
2. Estimates of global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of diarrhoeal diseases: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015 // *The Lancet. Infectious Diseases*. – 2017. – Vol. 17, № 9. – P. 909–948.
3. Haemolytic uraemic syndrome / D. Karpman, S. Loos, R. Tati, I. Arvidsson // *Journal of Internal Medicine*. – 2017. – Vol. 281, № 2. – P. 123–148.
4. Amjad, M. An overview of the molecular methods in the diagnosis of gastrointestinal infectious diseases / M. Amjad // *International Journal of Microbiology*. – 2020. – Vol. 2020. – DOI: 10.1155/2020/8135724.
5. A laboratory-developed TaqMan Array Card for simultaneous detection of 19 enteropathogens / J. Liu, J. Gratz, C. Amour [et al.] // *Journal of Clinical Microbiology*. – 2013. – Vol. 51, № 2. – P. 472–480.
6. Оптимизация этиологической диагностики у детей кишечных моно- и микст-инфекций на основе количественной ПЦР в реальном времени с использованием микропроточных карт / Г. В. Семейко, М. А. Ермолович, Л. И. Кастюкевич [и др.] // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики : рец. ежегод. сб. науч. тр. : в 2 т. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Белорус. гос. мед. ун-т ; под ред. С. П. Рубниковича, В. А. Филонюка. – Минск, 2022. – Вып. 12, т. 1. – С. 348–354.
7. Динамика инфекционной заболеваемости у детей в Российской Федерации в 2017–2018 годах / Ю. В. Лобзин, С. В. Рачкова, Н. В. Скрипченко [и др.] // *Медицина экстремальных ситуаций*. – 2019. – № 3. – С. 8–18.
8. High burden of co-infection with multiple enteric pathogens in children suffering with diarrhoea from rural and peri-urban communities in South Africa / N. Potgieter, L. Heine, J. P. K. Ngandu [et al.] // *Pathogens*. – 2023. – Vol. 12, № 2. – DOI: 10.3390/pathogens12020315.
9. Гемолитико-уремический синдром у детей в Республике Беларусь / К. А. Судновская, С. В. Байко, А. В. Сукало, И. В. Шевчук // *Медицинские новости*. – 2020. – № 4. – С. 65–68.
10. Etiological diagnosis of post-diarrheal hemolytic uremic syndrome (HUS): humoral response contribution / G. A. Fiorentino, E. Miliwebsky, M. V. Ramos [et al.] // *Pediatric Nephrology*. – 2023. – Vol. 38, № 3. – P. 739–748.

Semeiko G. V., Samoilovich E. O., Yermalovich M. A., Romanova O. N.¹, Baiko S. V.¹

SPECTRUM OF ENTEROPATHOGENS IN CHILDREN WITH ACUTE INFECTIOUS DIARRHEA AND POSTDIARRHEAL HEMOLYTIC-UREMIC SYNDROME

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

¹ Educational Institution «Belarusian State Medical University», Minsk, Belarus

Fecal samples from 156 hospitalized children with acute infectious diarrhea and 92 hospitalized children with typical postdiarrheal hemolytic-uremic syndrome (tHUS) were tested using quantitative real-time PCR for 34 enteropathogens (viruses, bacteria, protozoa, helminths) on the use of 384-well TaqMan Array Cards. In children with diarrhea enteropathogens were detected in 89.1 % (139/156) cases with Rotavirus being the dominant pathogen (89/157, 57.1 %). In children with tHUS 67.4 % (62/92) of samples were positive, the most common being diarrheagenic *E. coli* (45/92, 48.9 %). Totally 14 pathogens were detected in each group, multiple pathogens (2 or more) were present in 39.7 % (62/156) of children with diarrhea and 21.7 % (20/92) ($p < 0.001$) with tHUS. Among 45 cases of detection of diarrheagenic *E. coli* in tHUS, shiga toxin genes (*stx*) were identified in 88.9 % (40/45), which confirmed the diagnosis of STEC-HUS. In children with diarrhea, diarrheagenic *E. coli* were detected in 12.2 % (19/156) of patients, and shigatoxin-producing *E. coli* was detected in 15.8 % (3/19).

Keywords: quantitative real-time PCR, enteropathogens, children, acute infectious diarrhea, hemolytic-uremic syndrome.

References

1. Hodges K., Gill R. Infectious diarrhea: cellular and molecular mechanisms. *Gut Microbes*. 2010; 1(1): 4–21.
2. Estimates of global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of diarrhoeal diseases: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet Infect Dis*. 2017; 17(9): 909–48.
3. Karpman D., Loos S., Tati R., Arvidsson I. Haemolytic uraemic syndrome. *J Intern Med* 2017; 281(2): 123–48.
4. Amjad M. An overview of the molecular methods in the diagnosis of gastrointestinal infectious diseases. *Int J Microbiol*. 2020; 2020. DOI: 10.1155/2020/8135724.
5. Liu J., Gratz J., Amour C. et al. A laboratory-developed TaqMan Array Card for simultaneous detection of 19 enteropathogens. *J Clin Microbiol*. 2013; 51(2): 472–80.
6. Semeiko G. V., Yermalovich M. A., Kastsyukevich L. I. et al. Optimization of etiological diagnosis of intestinal mono- and mixed infections in children based on quantitative real-time PCR using TaqMan Array Card. In: Rubnikovich S. P., Filonyuk V. A. chief eds. *BGMU v avangarde meditsinskoi nauki i praktiki [BSMU is at the forefront of medical science and practice]: Collection of scientific papers of the BSMU*. In 2 vol. Iss. 12. Vol. 1. Minsk; 2022: 348–54. (in Russian)
7. Lobzin Yu. V., Rachkova S. V., Skripchenko N. V. et al. Dynamics of infectious diseases in children in the Russian Federation in 2017–2018. *Extrem Med*. 2019; 3: 340–50. (in Russian)
8. Potgieter N., Heine L., Ngandu J. P. K. et al. High burden of co-infection with multiple enteric pathogens in children suffering with diarrhoea from rural and peri-urban communities in South Africa. *Pathogens*. 2023; 12(2). DOI: 10.3390/pathogens12020315.
9. Sudnouskaya K. A., Baiko S. V., Sukalo A. V., Sheuchuk I. V. Hemolytic uremic syndrome in children in Belarus. *Med Novosti*. 2020; 4: 65–8. (in Russian).
10. Fiorentino G. A., Miliwebsky E., Ramos M. V. et al. Etiological diagnosis of post-diarrheal hemolytic uremic syndrome (HUS): humoral response contribution. *Pediatr Nephrol*. 2023; 38(3): 739–48.

e-mail для переписки: g-semeiko@yandex.ru

Поступила 10.10.2024

УДК 616.2-022.6-053.2:578.28

Сивец Н. В., Шмелева Н. П.

ЭТИОЛОГИЯ РЕСПИРАТОРНЫХ ВИРУСОВ У ГОСПИТАЛИЗИРОВАННЫХ ДЕТЕЙ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ ДО И ПОСЛЕ ПАНДЕМИИ COVID-19: ПЕРСПЕКТИВНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ В РАМКАХ НАЦИОНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ НАДЗОРА ЗА ВОЗБУДИТЕЛЯМИ ОРВИ

*Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии
и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь*

Аннотация. Инфекции дыхательных путей у детей являются одной из наиболее распространенных причин как заболеваемости, так и смертности во всем мире. Пандемия коронавирусной инфекции (COVID-19), наряду с ее воздействием на общественное здравоохранение, мировую экономику и окружающую среду, привела к изменению эпидемиологии респираторных вирусов. В этом исследовании проведена сравнительная оценка эпидемиологических особенностей возбудителей ОРВИ у госпитализированных детей до пандемии и после пандемии COVID-19. В исследование включены 8732 ребенка в возрасте от 0 до 18 лет со всех административных районов страны с октября 2010 по октябрь 2024 г. Все образцы тестировали на наличие генетического материала аденовируса (далее – АД), бокапарвовируса (далее – БВ), респираторно-синцитиального вируса (далее – РС), метапневмовируса (далее – МПВ), риновируса (далее – РВ), вируса парагриппа 1–4 типа (далее – ПГ), коронавирусов 229Е, НКУ1, NL63, BetaCoV1 (далее – ВВ), SARS-CoV-2, вируса гриппа (далее – ВГ). По сравнению с 2010–2019 гг. (69,9 %) доля выявления респираторных в период с 2020–2024 гг. была значительно ниже и составила 26,6 %. Частота инфицирования респираторными вирусами варьировала в зависимости от возраста

и сезона. Особенностью постпандемического периода стало уменьшение доли гриппозной и респираторно-синцитиальной вирусной инфекции у детей при сохранении активной циркуляции риновируса. Доля положительных находок для РС-вирус практически не изменилась до и после начала пандемии COVID-19 (11,8 % и 11,9 % соответственно), в отличие от бокапарвовируса, при детекции которого отмечено снижение частоты выявления с 12,0 % до 3 %.

Ключевые слова: ОРВИ, ПЦР, SARS-CoV-2, респираторные вирусы.

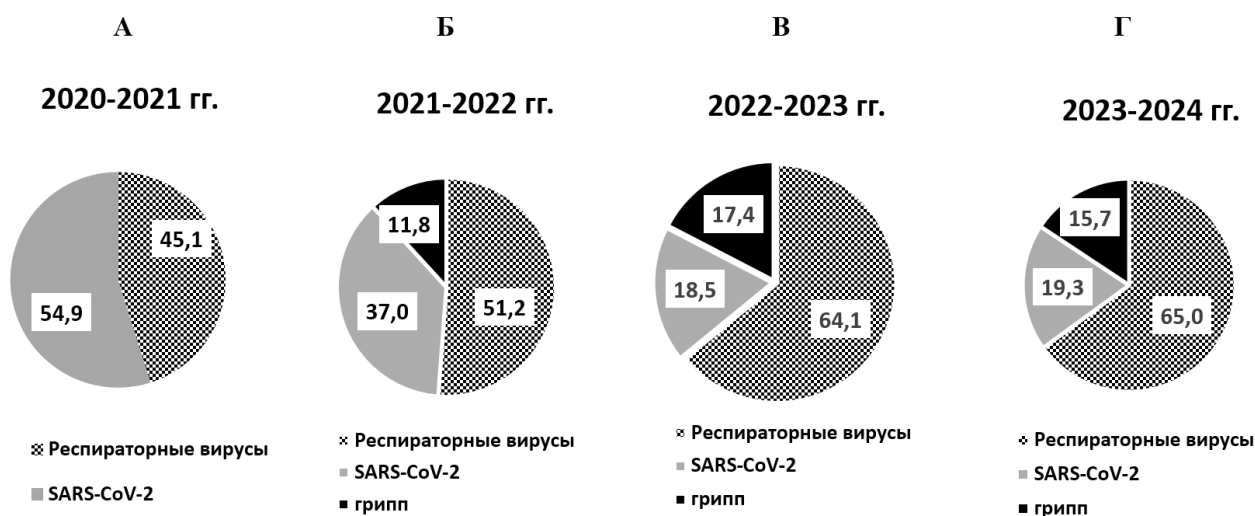
Введение. Острые респираторные вирусные инфекции (далее – ОРВИ) являются ведущей причиной острых заболеваний во всем мире, на долю которых приходится около 4 миллионов летальных случаев, особенно среди детей и младенцев, а также лиц пожилого возраста. По меньшей мере 12 различных респираторных вирусов являются основными этиологическими агентами ОРВИ, которые принадлежат к различным вирусным таксономическим семействам и способны вызывать заболевания как верхних, так и нижних дыхательных путей. Инфекции нижних дыхательных путей являются четвертой по распространенности причиной смерти во всем мире после неинфекционных хронических заболеваний [1–3]. Для многих респираторных вирусов характерна сезонная циркуляция, которая обусловлена как строением вириона (наличие оболочки), так и климатическими факторами, такими как температура и влажность, которые влияют на стабильность респираторного вируса, скорость его передачи в популяции хозяина, и по-видимому, влияют на внутренние и адаптивные иммунные реакции организма хозяина на ОРВИ [4, 5]. В распространении респираторных вирусов важным элементом является модель поведения людей, которая влияет на частоту взаимодействия между восприимчивыми хозяевами и инфицированными людьми. Уменьшение числа социальных контактов, ношение масок и гигиена рук в пандемию COVID-19 привело к снижению активной циркуляции респираторных вирусов. Ситуация значительно изменилась после ослабления мер, связанных с пандемией и с июня 2021 г. в различных странах наблюдалась растущая и стойкая волна ОРВИ у детей, не связанных с COVID-19 [6, 7]. Активная циркуляция коронавируса SARS-CoV-2 на протяжении последних четырех лет (2020–2024 гг.) привела к изменениям эпидемиологических закономерностей распространения респираторных возбудителей во многих странах мира, в том числе и в нашей стране.

Цель работы – охарактеризовать эпидемиологические тенденции респираторных вирусов в Республике Беларусь после пандемии COVID-19 по сравнению с таковыми до пандемии с использованием данных национального эпидемиологического надзора за возбудителями ОРВИ.

Материалы и методы. Для сравнения эпидемиологических характеристик респираторных вирусных инфекций проведен анализ всех верифицированных ОРВИ у госпитализированных детей до и после пандемии COVID-19 в рамках интегрированной системы дозорного эпидемиологического слежения за респираторными вирусами в Республике Беларусь с октября 2010 по октябрь 2024 г. За данный период проанализировано 8732 назофарингеальных мазка от госпитализированных детей в возрасте от 0 до 18 лет со всех административных районов страны: Брестская область – 1034, Витебская область – 1319, Гомельская область – 1310, Гродненская область – 794, Минская область – 1273, Могилевская область – 1278, г. Минск – 1724 образца. Все образцы тестировали на наличие генетического материала аденовируса, бокапарвовируса, респираторно-синцитиального вируса, метапневмовируса, риновируса, вируса парагриппа 1–4 типа, коронавирусов 229E, HKU1, NL63, BetaCoV1, SARS-CoV-2, вируса гриппа с использованием диагностических наборов «Influenza virus A/B-FL», «ОРВИ-скрин» («АмплиСенс», Российская Федерация), «ФЛУ-ген», «ОРВИ-ген», «КОРОНА-ген», «COVID-скрин» (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Республика Беларусь). Выделение ДНК и РНК респираторных вирусов проводили с набором «Рибо-сорб» («АмплиСенс», Российская Федерация), «НуклеСорб» (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Республика Беларусь), реакцию обратной транскрипции проводили с комплектом реагентов «РЕВЕРТА-L» («АмплиСенс», Российская Федерация), «РЕВЕРТАЗА-M-MuLV-50» (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Республика Беларусь). Все исследования выполняли согласно инструкции производителя на амплификаторах Rotor Gene 6000 (Corbett research, Австралия), CFX 96 (США). Достоверность полученных результатов оценивали по значению порога цикла (Ct) контрольных образцов указанного в инструкциях производителя.

Статистический анализ выполняли путем обобщения характеристик непрерывных и категориальных данных в виде цифр и процентов с использованием статистических пакетов Microsoft Excel для обработки данных и построения диаграмм, таких как линейчатые диаграммы и столбчатые графики. Тест χ^2 и точный тест Фишера были применены для статистического сравнения разных возрастных групп и этиологической структуры ОРВИ до и после пандемии COVID-19. Пороговое значение $P < 0,05$ считалось статистически значимым.

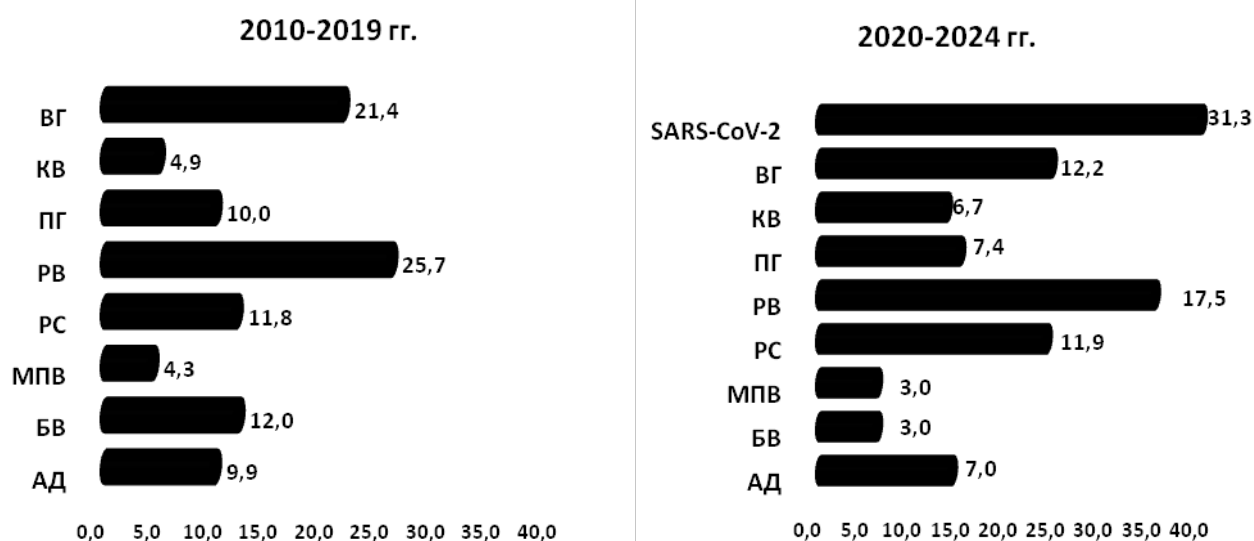
Результаты и их обсуждение. Все исследования дозорного слежения за возбудителями гриппа и грибоподобных заболеваний можно разделить на два периода: до пандемии (2010–2019 гг.) и период пандемии COVID-19 (2020–2024 гг.). За период 2010–2019 гг. в общей сложности было проведено исследование 4412 назофарингеальных мазков, за период 2020–2024 гг. проведено тестирование 4320 пациентов. Частота выявления респираторных вирусов в период активной циркуляции коронавируса SARS-CoV-2 была значительно ниже и составила 26,6 % в отличие от допандемического периода, где у 69,9% детей был верифицирован вирусный патоген ($P < 0,05$). По мере развития пандемии циркуляция всех наиболее распространенных респираторных вирусов, не связанных с SARS-CoV-2, значительно варьировала, в большинстве случаев независимо от волн COVID-19. Установлено доминирование вируса SARS-CoV-2 у госпитализированных детей в сезон 2020–2021 гг. с частотой встречаемости 54,9% и последующее снижение активности вируса в сезоны 2021–2022 гг. (37,0 %), 2022–2023 гг. (18,5 %) и небольшое увеличение регистрации в 2023–2024 гг. (19,3 %). Эпидемический сезон 2021–2022 гг. имел свои особенности: на фоне продолжавшейся циркуляции и доминирование нового коронавируса SARS-CoV-2 в структуре ОРВИ уже с 47 к. н. вновь начали регистрировать гриппозную инфекцию, ассоциированную с циркуляцией вируса гриппа А/Н3N2, и грипп С. В сезон 2022–2023 гг. наблюдали более выраженные различия по доле участия в этиологии ОРВИ вирусов гриппа (17,4 %), обусловленные одновременной циркуляцией трех вирусов гриппа: А (H1N1pdm09), С и В. На фоне возвращения в циркуляцию вируса гриппа Н3N2 в сезон 2023–2024 гг. частота выявления вируса гриппа у детей снизилась до 15,7 %. Доля других возбудителей ОРВИ у детей составила 45,1 % в сезон 2020–2022 гг., в сезоны 2021–2022 гг., 2022–2023 гг., 2023–2024 гг. – 51,2 %, 64,1 %, 65 % соответственно (рисунок 1).



А – 2020–2021 гг.; Б – 2021–2022 гг.; В – 2022–2023 гг.; Г – 2023–2024 гг.

Рисунок 1 – Активности респираторных вирусов в сезоны 2020–2024 гг.

До пандемии лидирующую позицию в этиологии ОРВИ занимали четыре вируса: риновирус (25,7 %, 792/3082), вирусы гриппа (21,4 %, 659/3082), бокапарвовирус (12,0 %, 371/3082) и респираторно-синцициальный вирус (11,8 %, 365/3082), затем следовали вирус парагриппа (10 %, 307/3082), аденовирус (9,9 %, 306/3082), сезонные коронавирусы (4,9 %, 150/3082) и метапневмовирус (4,3 %, 132/3082). Во время пандемии COVID-19 наблюдали доминирование коронавируса SARS-CoV-2 (31,3 %, 360/1151), частота выявления других респираторных вирусов была значительно ниже. Тремя наиболее распространенными патогенами по-прежнему были риновирус (17,5 %, 202/1151), респираторно-синцициальный вирус (11,9 %, 137/1151) и вирусы гриппа (12,2 %, 122/1151). Следует отметить, что показатели выявления бокапарвовируса (3,0 %, 35/1151) и вируса гриппа (12,2 %, 140/1151) ($P < 0,05$) значительно снизились по сравнению с периодом 2010–2019 гг. Также установлены некоторые статистические различия в положительных показателях инфицирования для вируса парагриппа (7,4 %, 85/1151), аденовируса (7,0 %, 80/1151), метапневмовируса (3,0 %, 35/1151). Для сезонных коронавирусов отмечен рост частоты выявления с 4,9 % до пандемии до 6,7 % в пандемию. Этиологическая структура возбудителей ОРВИ у госпитализированных детей за два периода представлена на рисунке 2.



АД – аденовирус; БВ – бокапарвовирус; ВГ – вирус гриппа; КВ – коронавирус; ПГ – вирус парагриппа; РС – респираторно-синцитиальный вирус; РВ – риновирус; МПВ – метапневмовирус.

Рисунок 2 – Этиологическая структура возбудителей ОРВИ у госпитализированных детей до и после пандемии COVID-19

В текущем исследовании все пациенты были разделены на 4 группы в зависимости от возраста. Результаты показали, что положительные показатели по некоторым респираторным вирусам до и после пандемии в разных возрастных группах отличались (таблица 1).

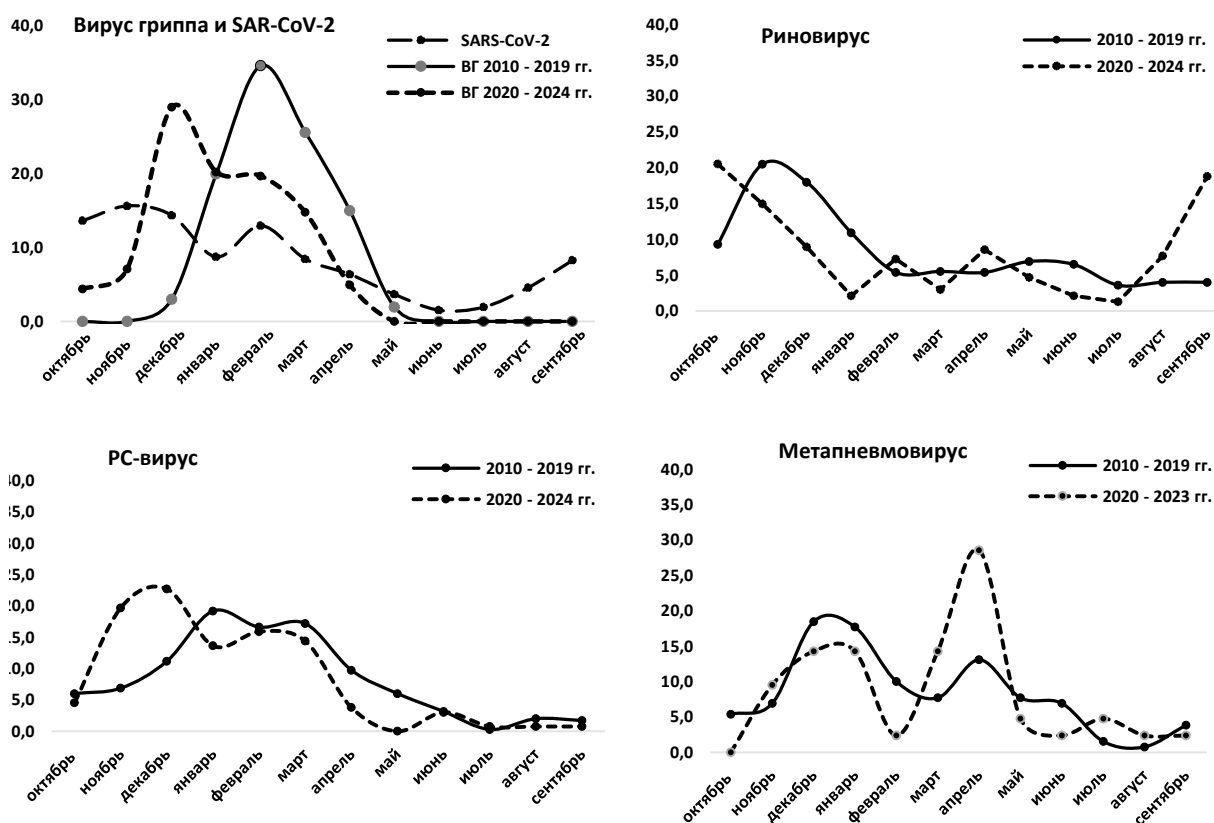
Таблица 1 – Частота выявления респираторных вирусов в разных возрастных группах до пандемии и после пандемии

Вирусы	Частота выявления респираторных вирусов в разных возрастных категориях (% , n)							
	до пандемии (2010–2019 гг.)				после пандемии (2020–2024 гг.)			
	0–1 год (n = 545)	2–3 года (n = 1071)	4–7 лет (n = 854)	старше 7 лет (n = 612)	0–1 год (n = 309)	2–3 года (n = 267)	4–7 лет (n = 203)	старше 7 лет (n = 372)
АД	11,1 (34)	17,3 (53)	27,1 (83)	44,4 (136)	22,5 (18)	45,0 (36)	23,8 (19)	8,8 (7)
БВ	18,6 (69)	58,8 (218)	18,9 (70)	3,8 (14)	37,1 (13)	51,4 (18)	8,6 (3)	2,9 (1)
МПВ	2,3 (3)	15,2 (20)	62,1 (82)	20,5 (27)	20,0 (7)	28,6 (10)	34,3 (12)	17,1 (6)
РС	39,5 (144)	46,0 (168)	8,8 (32)	5,8 (21)	56,2 (77)	22,6 (31)	9,5 (13)	11,7 (16)
РВ	23,6 (187)	48,4 (383)	19,1 (151)	9,0 (71)	21,3 (43)	28,2 (57)	25,2 (51)	25,2 (51)
ПГ	7,2 (22)	29,0 (89)	47,9 (147)	16,0 (49)	32,9 (28)	35,3 (30)	18,8 (16)	12,9 (11)
КВ	15,3 (23)	28,0 (42)	46,0 (69)	10,7 (16)	18,2 (14)	31,2 (24)	24,7 (19)	26,0 (20)
ВГ	9,6 (63)	14,9 (98)	33,4 (220)	42,2 (278)	17,9 (25)	17,1 (24)	18,6 (26)	46,4 (65)
SARS-CoV-2	0	0	0	0	23,3 (84)	10,3 (37)	12,2 (44)	54,2 (195)

Согласно данным таблицы 1, до пандемии аденовирус наиболее часто выявляли в возрастной группе старше 7 лет (44,4 %), после пандемии наиболее восприимчивыми стали дети первых лет жизни (0–1 год – 22,5 %, 2–3 года – 45,0 %). Для бокапарвовируса самый высокий показатель детекции вируса характерен для возрастной группы 2–3 года независимо от периода исследования (58,8 % до пандемии, 51,4 % после пандемии). Доля положительных результатов теста на МПВ была самой высокой в группе детей в возрасте 4–7 лет (62,1 %) до пандемии, в период 2020–2024 гг. снизилась до 34,3 %. Вирус

гриппа достоверно чаще выявляли у детей старше 7 лет как до пандемии (42,2 %), так и после (46,4 %) ($P < 0,05$). Количество положительных результатов теста на РС-вирус в период активной циркуляции вируса SARS-CoV-2 заметно увеличилось в группе детей от 0 до 1 года с 39,5 % до 56,2 %. Также в 2 раза увеличилась доля положительных находок для данного вируса у детей возрастной группы старше 7 лет и составила 11,7 % по сравнению с допандемическим периодом – 5,8 % ($P < 0,05$). Риновирус и сезонные коронавирусы практически равномерно выявляли во всех возрастных группах после пандемии, в отличие от до пандемического периода, где наиболее восприимчивыми были дети возрастной группы от 2–3 лет для риновируса и возрастная группа 4–7 лет для коронавирусов. Вирус SARS-CoV-2 чаще детектировали у детей старше 7 лет, на долю которых пришлось 54,2 % положительных результатов, меньше всего возбудитель выявляли в возрастной группе от 2 лет (10,3 %).

При проведении дозорного слежения за вирусом гриппа и другими возбудителями ОРВИ в период 2010–2019 гг. наблюдалось стабильное количество выявлений респираторных вирусов в соответствии с сезонной закономерностью. Однако в период пандемии COVID-19 (2020–2024 гг.) установлены отчетливые изменения в структуре сезонных инфекций, особенно для доминирующих в структуре ОРВИ респираторных вирусов. Полученные данные свидетельствуют о подавлении нормальных циклических тенденций распространения гриппа, респираторно-синцитиального вируса, парагриппа и других возбудителей ОРВИ в сезоны 2020–2024 гг. На основании многолетнего наблюдения установлено, что заболеваемость детей респираторно-синцитиальной вирусной инфекцией в нашей стране имеет зимне-весенний характер с максимальной частотой выявления в январе либо в марте. В сезон 2020–2021 гг. показано практически полное отсутствие циркуляции РС-вируса, а в последующие сезоны 2021–2024 гг. наблюдали резкое увеличение активности вируса и изменение сезонности на осенне-зимний период. Вирус гриппа также отметился отсутствием в сезон 2020–2021 гг. и более ранним началом циркуляции (ноябрь) на протяжении последующих трех сезонов 2021–2024 гг. В допандемические годы заражение вирусом парагриппа практически не регистрировалось в не зимний период. Однако после пандемии количество выявленных случаев инфицирования вирусом парагриппа выросло в летний период (рисунок 3).



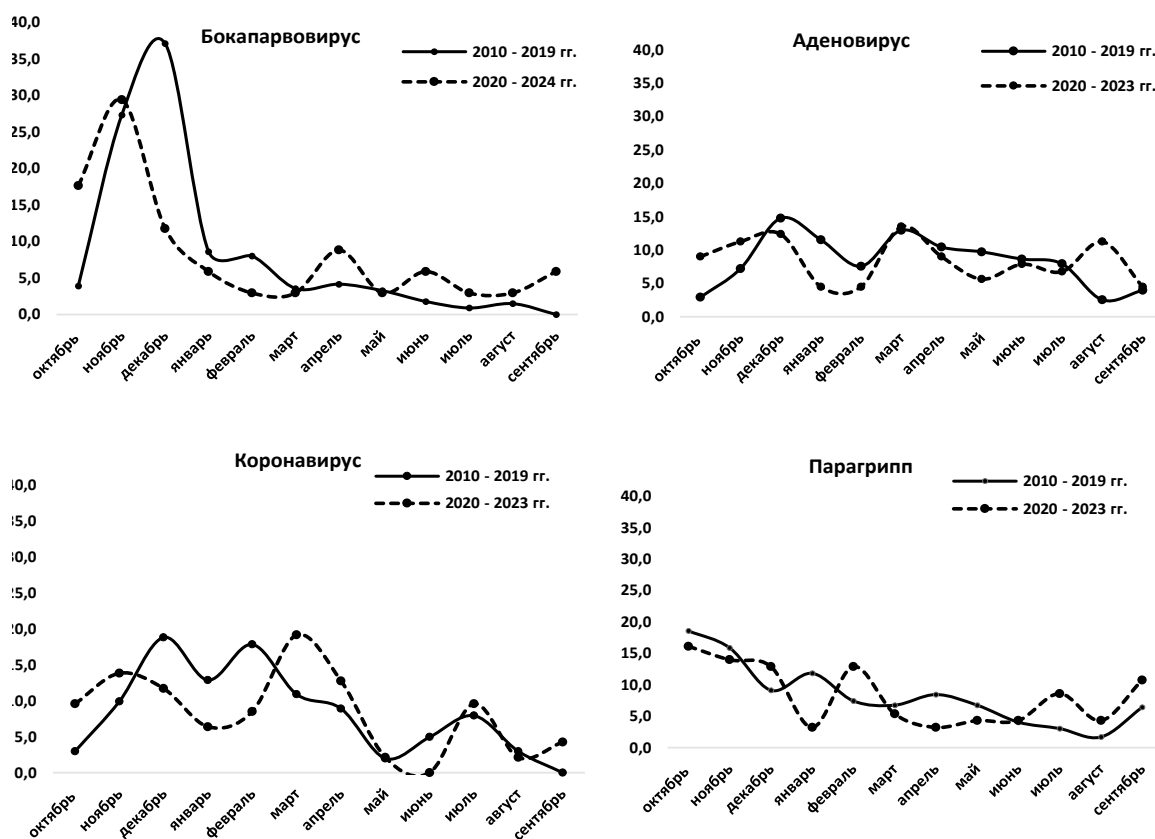


Рисунок 3 – Сезонная активность респираторных вирусов до и после пандемии COVID-19

Бокапарвовирус, как и в до пандемический период, наиболее часто выявляли в осенний период, однако в сезоны 2020–2022 гг. генетический материал вируса детектировали в несвойственные для него весенний и летний периоды. Для сезонных коронавирусов отмечено смещение активности на весну и лето. В отличие от других вирусных патогенов, риновирус регистрировали на протяжении всего года в независимости от периода наблюдения. Такая активность возбудителя наблюдалась и в других странах мира. Вирусы гриппа А и гриппа В за анализируемый период выявляли в зимний период, однако установлена более ранняя циркуляция вируса гриппа в сезоны 2021–2022 гг. и 2022–2023 гг. (47 к. н. – середина ноября), но уже в сезон 2023–2024 гг. первые случаи гриппозной инфекции детектировали в более позднее время – в декабре, как до пандемии. Для коронавируса SARS-CoV-2 на протяжении трех сезонов наблюдали подъем заболеваемости в осенний период. Это позволяет предположить, что возбудитель и в последующие сезоны будет активно циркулировать осенью и перейдет в ранг сезонных возбудителей.

Закключение. В этом исследовании проанализированы данные национального эпидемиологического надзора за возбудителями ОРВИ у госпитализированных детей до и после пандемии COVID-19. В пиковый период пандемии в 2020 г. в этиологии ОРВИ преобладал SARS-CoV-2 (54,9 %), однако уже в сезон 2023–2024 гг. доминировали негриппозные респираторные вирусы, на долю которых пришлось 65,0 % положительных находок. Особенностью постпандемического периода стало уменьшение доли гриппозной (с 21,4 % до 12,2 %) и бокапарвовирусной инфекции (с 12,0 % до 3 %). РС-вирус является единственным возбудителем, который сохранил примерно одинаковый уровень заболеваемости до и после начала пандемии (11,8 % против 11,9 %). Для постковидного периода также установлено изменение в разных возрастных группах частоты выявления респираторных вирусов и их необычная сезонная закономерность по сравнению с периодом до начала пандемии COVID-19. Существуют разные гипотезы, которые объясняют такие изменения активности и сезонные сдвиги вирусных патогенов, например разная длительность иммунитета после перенесенной инфекции, «интерференция» респираторных вирусов, при которой одна эпидемия задерживает начало или ускоряет окончание другой вирусной эпидемии. Однако все эти гипотезы требуют более детального и углубленного изучения. Для оценки влияния пандемии COVID-19 на заболеваемость респираторными вирусами как среди детей, так и среди взрослых в нашей стране требуется дальнейшее проведение исследований с последующим эпидемиологическим и этиологическим анализом.

Літэратура

1. Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of lower respiratory tract infections in 195 countries: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015 // *The Lancet. Infectious Diseases*. – 2017. – Vol. 17, № 11. – P. 1133–1161.
2. Global burden of upper respiratory infections in 204 countries and territories, from 1990 to 2019 / X. Jin, J. Ren, R. Li [et al.] // *EClinicalMedicine*. – 2021. – Vol. 37. – P. 100986. – DOI: 10.1016/j.eclinm.2021.100986.
3. Couriel, J. Assessment of the child with recurrent chest infections / J. Couriel // *British Medical Bulletin*. – 2002. – Vol. 61. – P. 115–132.
4. Moriyama, M. Seasonality of respiratory viral infections / M. Moriyama, W. J. Hugentobler, A. Iwasaki // *Annual Review of Virology*. – 2020 – Vol. 7, № 1. – P. 83–101.
5. Epidemiological characteristics of four common respiratory viral infections in children / G. Zhu, D. Xu, Y. Zhang [et al.] // *Virology Journal*. – 2021. – Vol. 18, № 1. – P. 10. – DOI: 10.1186/s12985-020-01475-y.
6. The impact of the lockdown and the re-opening of schools and day cares on the epidemiology of SARS-CoV-2 and other respiratory infections in children – a nationwide register study in Finland / M. Haapanen, M. Renko, M. Artama, I. Kuitune // *EClinicalMedicine*. – 2021. – Vol. 34. – P. 100807. – DOI: 10.1016/j.eclinm.2021.100807.
7. The reemergence of seasonal respiratory viruses in houston, texas, after relaxing COVID-19 restrictions / P. Hodjat, P. A. Christensen, S. Subedi [et al.] // *Microbiology Spectrum*. – 2021. – Vol. 9, № 2. – P. e0043021. – DOI: 10.1128/Spectrum.00430-21.

Sivets N. V., Shmialiova N. P.

ETIOLOGY OF RESPIRATORY VIRUSES IN HOSPITALIZED CHILDREN IN THE REPUBLIC OF BELARUS BEFORE AND AFTER THE COVID-19 PANDEMIC: A PROSPECTIVE STUDY WITHIN THE FRAMEWORK OF THE NATIONAL SURVEILLANCE SYSTEM FOR ARI AGENTS

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

Respiratory tract infections in children are one of the most common causes of both morbidity and mortality worldwide. The coronavirus disease (COVID-19) pandemic, along with its impact on public health, the global economy, and the environment, has led to a change in the epidemiology of respiratory viruses. This study compared the epidemiological characteristics of ARVI pathogens in hospitalized children before and after the COVID-19 pandemic. The study included 8,732 children aged 0–18 years from all administrative regions of the country from October 2010 to October 2024. All samples were tested for the presence of genetic material of adenovirus (hereinafter – AD), bocaparvovirus (hereinafter – BV), respiratory syncytial virus (hereinafter – RS), metapneumovirus (hereinafter – MPV), rhinovirus (hereinafter – RV), parainfluenza virus types 1–4 (hereinafter – PI), coronaviruses 229E, HKU1, NL63, BetaCoV1 (hereinafter – KB), SARS-CoV-2, and influenza virus (hereinafter – IV). Compared to 2010–2019 (69.9 %), the proportion of respiratory detections in the period from 2020–2024 was significantly lower and amounted to 26.6 %. The frequency of infection with respiratory viruses varied depending on age and season. A feature of the post-pandemic period was a decrease in the proportion of influenza and respiratory syncytial virus infections in children while maintaining active circulation of rhinovirus. The proportion of positive findings for RS-virus remained virtually unchanged before and after the onset of the COVID-19 pandemic (11.8 % and 11.9 %, respectively), unlike bocaparvovirus, the detection of which showed a decrease in the detection rate from 12.0 % to 3 %.

Keywords: ARI, PCR, SARS-CoV-2, respiratory viruses.

References

1. Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of lower respiratory tract infections in 195 countries: a systematic analysis for the global burden of disease study. *Lancet Infect Dis*. 2017; 17(11): 1133–61.
2. Jin X., Ren J., Li R. et al. Global burden of upper respiratory infections in 204 countries and territories, from 1990 to 2019. *EClinicalMedicine*. 2021; 37: 100986. DOI: 10.1016/j.eclinm.2021.100986.
3. Couriel J. Assessment of the child with recurrent chest infections. *Br Med Bull*. 2002; 61: 115–32.
4. Moriyama M., Hugentobler W.J., Iwasaki A. Seasonality of respiratory viral infections. *Annu Rev Virol*. 2020; 7(1): 83–101.
5. Zhu G., Xu D., Zhang Y. et al. Epidemiological characteristics of four common respiratory viral infections in children. *Virol J*. 2021; 18(1): 10. DOI: 10.1186/s12985-020-01475-y.

6. Haapanen M., Renko M., Artama M., Kuitune I. The impact of the lockdown and the re-opening of schools and day cares on the epidemiology of SARS-CoV-2 and other respiratory infections in children – a nationwide register study in Finland. *EClinicalMedicine*. 2021; 34: 100807. DOI: 10.1016/j.eclinm.2021.100807.

7. Hodjat P., Christensen P. A., Subedi S. et al. The reemergence of seasonal respiratory viruses in Houston, Texas after relaxing COVID-19 restrictions. *Microbiol Spectr*. 2021; 9(2): e0043021. DOI: 10.1128/Spectrum.00430-21.

e-mail для переписки: sivets_n@mail.ru

Поступила 07.10.2024

УДК [616.98:578.835.15]-085.371:616-097.3]:612.017.1

Ухова И. Ф., Ермолович М. А., Самойлович Е. О.

ОЦЕНКА ПОПУЛЯЦИОННОГО ИММУНИТЕТА К ПОЛИОВИРУСУ СЕРОТИПА 1 НА ОСНОВАНИИ ВЫЯВЛЕНИЯ ВИРУСНЕЙТРАЛИЗУЮЩИХ АНТИТЕЛ

*Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены эпидемиологии
и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь*

Аннотация. Для оценки популяционного иммунитета к полиовирусу серотипа 1 (далее – ПВ1) 525 сывороток крови жителей Республики Беларусь в возрасте от 1 до 60 и более лет исследованы в реакции нейтрализации с вакцинным ПВ1 в культуре клеток RD. Стратификация обследованных лиц по возрастным группам проведена в соответствии с национальной историей иммунизации против полиомиелита (использование только оральной полиомиелитной вакцины, комбинированной схемы иммунизации, только инактивированной вакцины). Антитела к вакцинному ПВ1 в «защитном» титре (1 : 8 и более) обнаружены у 95,23 % обследованных лиц. Иммунная прослойка в регионах страны не различалась и составляла 92,86–98,51 %. Более 70 % серопозитивных лиц имели АТ в средних и высоких титрах. Анализ популяционного иммунитета к ПВ1 в возрастных группах показал, что группой с наиболее низким уровнем (88 %) являются лица в возрасте от 1 года до 4 лет, иммунизированные с использованием только инактивированной полиомиелитной вакцины. Сравнительный анализ полученных данных с выполненными ранее исследованиями по серопревалентности свидетельствует, что популяционный иммунитет к ПВ1 в Республике Беларусь является стабильно высоким, несмотря на изменение схем иммунизации против полиомиелита.

Ключевые слова: полиомиелит, популяционный иммунитет, вируснейтрализующие антитела.

Введение. Для вакцинации населения против полиомиелита с 1959 г. в Беларуси использовалась живая оральная трехвалентная полиомиелитная вакцина (далее – тОПВ), содержащая вакцинные штаммы всех трех известных серотипов (1, 2 и 3) полиовируса (далее – ПВ). В 2000 г. в стране была введена комбинированная схема иммунизации, включающая использование наряду с тОПВ и трехвалентной инактивированной полиомиелитной вакцины (далее – тИПВ), вначале одной ее дозы, в затем двух и трех. В апреле 2016 г., в условиях многолетнего отсутствия в мире циркуляции диких полиовирусов серотипа 2 (далее – ПВ2) и с целью предупреждения формирования нейровирулетных дериватов вакцинных ПВ (далее – ВПВ) этого серотипа, одномоментно во всем мире прекращено использование для плановой вакцинации ВПВ2. Использование тОПВ было заменено на бивалентную ОПВ, содержащую вакцинные штаммы серотипов 1 и 3. Для создания иммунитета к ПВ серотипа 2 всем странам рекомендовано использовать не менее двух доз тИПВ. Республика Беларусь с 2016 г. перешла на исключительное использование тИПВ. В календаре прививок для иммунизации детского населения используются четыре дозы этой вакцины в возрасте 3, 4, 5 месяцев и 7 лет.

Обеспечение контроля эффективности программы иммунопрофилактики полиомиелита определяет необходимость проведения сероэпидемиологических исследований, основанных на оценке превалентности в популяции антител (далее – АТ) в отношении ПВ каждого из трех серотипов [1–3]. Единственным методом выявления таких АТ является реакция нейтрализации, проводимая на чувствительной культуре клеток. Принцип метода основан на способности антиполиовирусных

АТ в сыворотке крови взаимодействовать с вирусом и блокировать его цитопатический эффект (далее – ЦПЭ) в клетках [4, 5].

Исследования, основанные на изучении репрезентативного количества сывороток крови, позволяют достоверно оценить состояние популяционного иммунитета, определить степень эпидемиологической опасности распространения заболевания на отдельных территориях страны, осуществить краткосрочное и долгосрочное прогнозирование изменения ситуации по инфекции, научно обосновать профилактические и противоэпидемические мероприятия в системе биологической безопасности, обеспечить информацией, необходимой для принятия оптимальных управленческих решений [6].

Оценка популяционного иммунитета населения Республики Беларусь в отношении ПВ всех трех серотипов при использовании только тОПВ и при комбинированной схеме вакцинации была проведена в 2000–2001 гг. и в 2010 г. [7, 8]. Оценка популяционного иммунитета в период применения только тИПВ ранее не проводилась.

Цель работы – провести оценку популяционного иммунитета населения Республики Беларусь к ВПВ серотипа 1 (далее – ВПВ1) на основании выявления вируснейтрализующих АТ в чувствительной культуре клеток в период исключительного применения для иммунизации тИПВ.

Материалы и методы. Сыворотки крови для исследования вируснейтрализующих АТ к ВПВ1 отбирали методом случайной выборки из лабораторной коллекции сывороток крови жителей Республики Беларусь в возрасте от 1 года до 60 лет и более, поступивших в 2021–2022 гг. из всех семи (шесть областей и г. Минск) регионов страны. Общее количество представленных в лабораторной коллекции сывороток крови насчитывало более 12 000 образцов. На каждый образец было составлено добровольное письменное информированное согласие ее владельца на участие в проведении научных исследований по изучению иммунитета к вакциноуправляемым инфекциям. До проведения исследования сыворотки хранились с соблюдением низкотемпературных (-80°C) условий.

Исследование проводили микрометодом в реакции нейтрализации с использованием культуральных микротитровальных 96-луночных панелей. В качестве культуры клеток использовали чувствительную к ПВ перевиваемую линию клеток RD (Национальный институт биологических стандартов и контроля, Великобритания). Рабочая посевная концентрация клеток, добавляемая в одну лунку панели, составляла 250 000 кл/мл. Данное количество клеток в питательной ростовой среде ДМЕМ с добавлением 2% эмбриональной фетальной сыворотки обеспечивало образование сливного монослоя в течение двух дней.

В качестве референс-штамма ВПВ1 использовали сертифицированный вакцинный референс-штамм Сэбина серотипа 1 (Национальный институт биологических стандартов и контроля, Великобритания) с известным титром ($6,9 \log_{10} \text{ТЦД}_{50} / 0,05 \text{ мл}$). Рабочее разведение вируса рассчитывали так, чтобы в 50 мкл вирусосодержащей жидкости содержалось не менее 50–200 ТЦД₅₀ (50% тканевая цитопатическая доза). Для контроля воспроизводимости полученных результатов использовали лабораторную референс-сыворотку с известным (1 : 256) титром АТ к данному серотипу.

Учет результатов исследования проводили визуально с использованием светового микроскопа, когда рабочая доза вируса достигала 50–200 ТЦД₅₀ (3–5-й день). Вируснейтрализующие АТ для каждой из исследуемых сывороток крови определяли по наличию ЦПЭ в культуре клеток путем сравнения опытных лунок с контрольными. Для каждой сыворотки рассчитывали конечную точку нейтрализации, используя формулу Кербера. Титром АТ в сыворотке считали ее наибольшее разведение, защищающее 50 % тест-культур (т. е. лунок) от действия вируса [4]. При интерпретации результатов исследования титр АТ 1 : 8 и более расценивали как «защитный» (предотвращает развитие полиомиелитной инфекции) [9], 1 : 4 – как «условно защитный» (препятствующий развитию полиомиелитной инфекции) [10].

Результаты и обсуждение. Для оценки популяционного иммунитета населения Республики Беларусь в отношении ВПВ1 был проведен расчет выборки, необходимой для проведения сероэпидемиологического исследования. Для определения размера выборки использовали веб-приложение эпидемиологического и статистического калькулятора для общественного здравоохранения – программа OpenEpi [11].

При расчете во внимание принимали многолетнюю динамику заболеваемости полиомиелитом, численность населения, национальный календарь профилактических прививок, данные предшествующих сероэпидемиологических исследований. При заданных параметрах и коэффициенте дизайна, равным 1, минимальный размер репрезентативной выборки для одного региона страны составлял 73 человека, а для всех семи регионов страны – 511 человек (формула 1):

$$\text{Sample size} = \frac{z^2 \times p(1-p)}{e^2} \cdot \left(1 + \frac{z^2 \times p(1-p)}{e^2 N} \right) \quad (1)$$

где N – численность популяции (возрастной группы);
z – достоверность (для 95% ДИ составляет 1,96);
p – ожидаемая серопревалентность (если не известна, то p = 0,5);
e – допустимая ошибка (5 %).

В соответствии с проведенными расчетами, методом случайной выборки было отобрано 525 сывороток крови, стратифицированных по регионам и возрастам. Количество обследованных лиц из г. Минска составило 105 человек, из Витебской, Гродненской и Гомельской областей – по 70 человек, из Брестской, Минской и Могилевской – 72, 71 и 67 человек соответственно. Формирование возрастных групп осуществляли с учетом национальной истории иммунизации против полиомиелита. Всего было определено семь групп, в каждой из которых были обследованы по 75 человек (таблица 1).

Таблица 1 – Возрастные группы населения Республики Беларусь для исследования популяционного иммунитета к ВПВ1, 2021–2022 гг.

Возрастные группы	Годы рождения	Иммунизированы с использованием	Обследовано лиц
1–4 года	2016–2020	тИПВ	75
5–9 лет	2011–2015	тИПВ + тОПВ	75
10–14 лет	2006–2010	тИПВ + тОПВ	75
15–19 лет	2001–2005	тИПВ + тОПВ	75
20–39 лет	1981–2000	тОПВ	75
40–59 лет	1961–1980	тОПВ	75
60 лет и более	до 1960	–	75

При исследовании 525 сывороток крови вируснейтрализующие АТ к ВПВ1 в «защитном» титре (1 : 8 и более) были выявлены у 500 (95,23 %) человек, а в «защитном» и «условно защитном» титрах (1 : 4 и более) – у 514 (97,91 %). Иммунная прослойка с АТ в титре 1 : 8 и более была достаточно высокой во всех регионах Республики Беларусь: от 92,86 % в Гомельской области до 98,51 % в Могилевской области (рисунок 1). Значимых различий между регионами в уровне иммунной прослойки к ВПВ1 выявлено не было (p > 0,05).

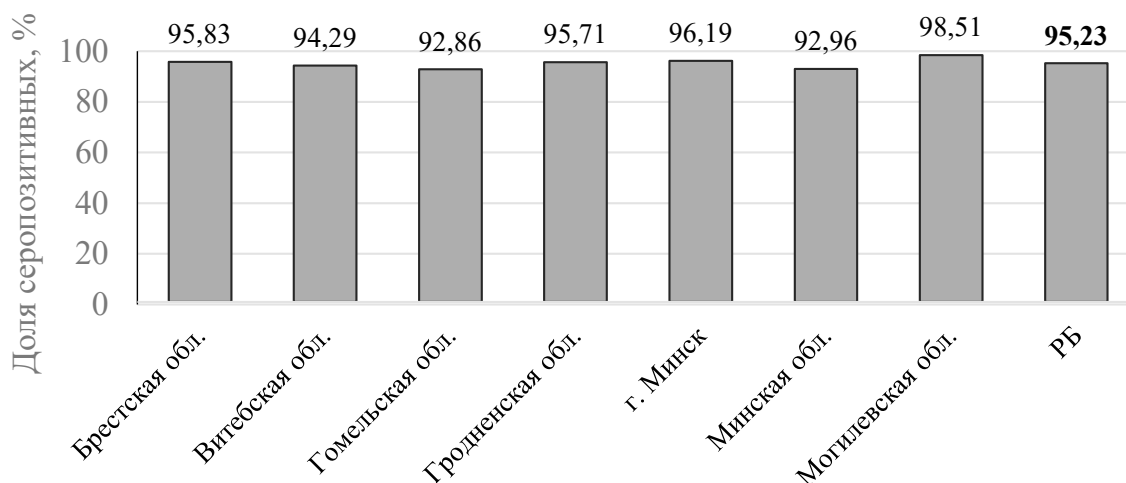


Рисунок 1 – Серопревалентность к ВПВ1 в регионах Республики Беларусь, 2021–2022 гг.

Согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения, при оценке иммунитета на популяционном уровне минимальным (критическим) уровнем иммунитета, необходимым для прекращения циркуляции ПВ, считается уровень серопозитивных лиц не менее 80 % [12]. Таким образом, во всех регионах страны этот уровень был достигнут и существенно превышен.

Изучение напряженности популяционного иммунитета (титр АТ у серопозитивных лиц) показало, что у 22,60 % (113/500) обследованных АТ присутствовали в низких (1 : 8–1 : 16) протективных титрах, у 51,60 % (258/500) – в средних (1 : 24–1 : 128), у 25,80 % (129/500) – в высоких (более 1 : 128) (таблица 2). В целом по стране у 77,40 % (387/500) обследованных лиц АТ обнаруживались в средних или высоких титрах.

Таблица 2 – Напряженность популяционного иммунитета к ВПВ1 в регионах Республики Беларусь, 2021–2022 гг.

Регион	Серопозитивных лиц, абс.	Из них с АТ в титре, абс. (%)		
		1 : 8–1 : 16	1 : 24–1 : 128	более 1 : 128
Брестский	69	15 (21,74)	39 (56,52)	15 (21,74)
Витебский	66	25 (37,88)	33 (50,00)	8 (12,12)
Гомельский	65	16 (24,62)	37 (56,92)	12 (18,46)
Гродненский	67	7 (10,45)	34 (50,75)	26 (38,81)
г. Минск	101	24 (23,76)	46 (45,54)	31 (30,69)
Минский	66	12 (18,18)	41 (62,12)	13 (19,70)
Могилевский	66	14 (21,21)	28 (42,42)	24 (36,36)
Республика Беларусь	500	113 (22,60)	258 (51,60)	129 (25,80)

Анализ уровня популяционного иммунитета к ВПВ1 в возрастных группах показал, что наименьшая доля серопозитивных лиц была выявлена у детей в возрасте от 1 года до 4 лет – 88 % (66/75) (рисунок 2).

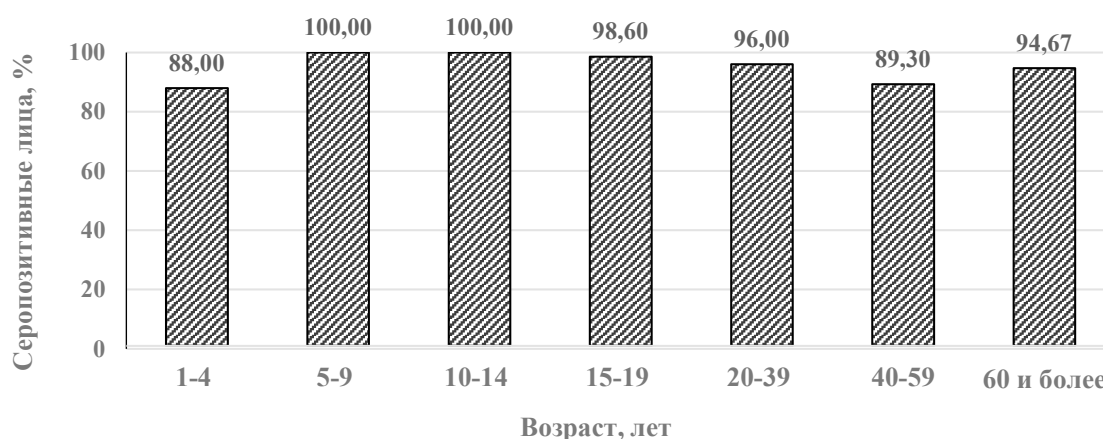


Рисунок 2 – Серопревалентность к ВПВ1 в возрастных группах населения Республики Беларусь, 2021–2022 гг.

Среди детского населения страны эта возрастная группа являлась единственной, где уровень популяционного иммунитета не достиг 90 %. У 3 (4 %) из 75 детей этой возрастной группы АТ к ВПВ1 были выявлены в титре менее 1 : 4 (один ребенок в возрасте 1 года, двое детей в возрасте 3 лет). Еще 6 детей (8 %) имели АТ в «условно защитном» титре 1 : 4 (два ребенка в возрасте 3 лет и 4 ребенка в возрасте 4 лет). Отсутствие АТ в «условно защитном» титре может являться следствием отказа от вакцинации или вакцинальных неудач. Присутствие АТ в титре 1 : 4 подтверждают проведенную вакцинацию против полиомиелита, однако эти дети могут быть отнесены только к «условно защищенным» в отношении ВПВ1. Такая ситуация вызывает настороженность, поскольку дети именно этой возрастной группы подлежали иммунизации только с использованием тИПВ. Данные обстоятельства требуют проведения дальнейшего обследования лиц этого возраста и уточнения иммунного статуса детей.

Доля лиц с высоким и средним уровнем АТ была выше 70 % во всех возрастных группах от 1 года до 39 лет (таблица 3). В возрасте 40 лет и старше доля лиц с низкими титрами АТ возрастала, средние и высокие титры АТ имели 60,0–67,0 % обследованных, что, вероятнее всего, обусловлено длительным периодом времени, прошедшем после формирования этих АТ.

Таблица 3 – Напряженность иммунитета к ВПВ1 в возрастных группах населения Республики Беларусь, 2021–2022 гг.

Возрастная группа	Серопозитивных лиц, абс.	Из них с АТ к ВПВ1 в титре, абс (%)		
		1 : 8–1 : 16	1 : 24–1 : 128	1 : 192 и более
1–4 года	66	17 (25,76)	41 (62,12)	8 (12,12)
5–9 лет	75	9 (12,0)	33 (44,0)	33 (44,0)
10–14 лет	75	6 (8,0)	33 (44,0)	36 (48,0)
15–19 лет	74	14 (18,92)	45 (60,81)	15 (20,27)
20–39 лет	72	18 (25,0)	43 (59,72)	11 (15,28)
40–59 лет	67	21 (31,34)	30 (44,78)	16 (23,88)
60 лет и старше	71	28 (39,44)	33 (46,48)	10 (14,08)

Ранее популяционный иммунитет к полиомиелиту в Республике Беларусь изучался в 2000–2001 гг. и в 2010 г. с обследованием 1537 человек в возрасте от 2 месяцев до 65 лет и 315 человек в возрасте от 1 года до 40 лет соответственно [7, 8]. Сравнительный анализ результатов предшествующих исследований и данных, полученных в настоящем исследовании, показал, что во все анализируемые периоды иммунитет к ВПВ1 в Республике Беларусь находился на достаточно высоком уровне и составлял более 90 % (таблица 4).

Таблица 4 – Сравнительный анализ результатов изучения популяционного иммунитета к ВПВ1 в Республике Беларусь в разные годы

Годы	Обследовано лиц	Возраст	Серопозитивные, абс. (%)	Из них с титрами АТ к ВПВ1, %		
				1 : 8–1 : 16	1 : 32–1 : 128	более 1 : 128
2000–2001	1537	2 мес. – 65 лет	1433 (93,2)	20,8	46,1	33,0
2010	315	1–40 лет	308 (97,8)	9,4	49,03	41,6
2021–2022	525	1–60 лет и более	500 (95,23)	22,6	51,6	25,8

Значимых различий в уровне иммунитета к ВПВ1 в 2000–2001 гг., 2010 г. и 2021–2022 гг. выявлено не было ($p > 0,05$). Анализ напряженности популяционного иммунитета у серопозитивных лиц показал, что во все годы более 70 % серопозитивных имели АТ к ВПВ1 в средних и высоких титрах (1 : 32 и более).

Заключение. Проведенное исследование выявило наличие АТ к ВПВ1 в «защитном» (1 : 8 и более) титре у 95,23 % обследованных жителей Республики Беларусь, а в «защитном» и «условно защитном» (1 : 4 и более) – у 97,91 %. Иммуная прослойка к ВПВ1 была достаточно высокой во всех регионах страны и колебалась в пределах 92,86–98,51 %. Значимых различий в уровне серопозитивности между регионами страны не выявлено.

Анализ уровня популяционного иммунитета к ВПВ1 в возрастных группах населения показал, что наиболее низким (88 %) он является у детей в возрасте от 1 года до 4 лет, иммунизированных с использованием только тИПВ. Это наблюдение вызывает настороженность и требует проведения дальнейших исследований с учетом иммунного статуса детей.

Сравнение полученных данных с результатами ранее выполненных исследований показало, что во все анализируемые периоды (2000–2001 гг., 2010 г. и 2021–2022 гг.) иммунитет к ВПВ1 в Республике Беларусь находился на достаточно высоком уровне, превышающем 90 %, что существенно выше расчетного минимального уровня 80 %, необходимого для прерывания трансмиссии ПВ. Значимых различий в уровне популяционного иммунитета в разные годы выявлено не было. Анализ напряженности иммунитета у серопозитивных лиц показал, что во все годы более 70 % серопозитивных лиц имели АТ к ВПВ1 в средних (1 : 24–1 : 128) и высоких (более 1 : 128) титрах.

Таким образом, полученные данные по серопревалентности к ВПВ1 свидетельствуют о том, что популяционный иммунитет к ВПВ1 в Республике Беларусь является стабильно высоким, несмотря на изменение схем иммунизации против полиомиелита. Результаты данных исследований представляют интерес для определения дальнейшей тактики вакцинации.

Сведения о НИР. НИР «Разработать алгоритм комплексной оценки популяционного иммунитета к вакциноуправляемым вирусным инфекциям» в рамках Плана научных исследований и разработок общегосударственного отраслевого назначения, направленных на научно-техническое обеспечение деятельности Министерства здравоохранения Республики Беларусь на 2023–2025 годы, регистрационный номер 20231122).

Литература

1. The growing threat of wild poliovirus 1 and vaccine-derived cases in the COVID-19 era / C. Franco-Paredes, A. J. Rodriguez-Morales, A. F. Henao-Martínez [et al.] // *The Lancet. Infectious Diseases*. – 2022. – Vol. 22, № 10. – P. 1412–1414.

2. Динамика изоляции полиовирусов из различных источников в условиях изменения схемы вакцинации против полиомиелита в Республике Беларусь / М. А. Ермолович, Е. О. Самойлович, Е. Ю. Свирчевская [и др.] // *Современные проблемы инфекционной патологии человека* : сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Респ. науч.-практ. центр эпидемиологии и микробиологии ; редкол.: В. А. Горбунова (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2019. – Вып. 12. – С. 155–159.

3. Полиомиелит: эпидемиологический надзор, вакцинопрофилактика и лабораторный контейнмент полиовирусов в Республике Беларусь / Е. О. Самойлович, Е. Ю. Свирчевская, И. Ф. Ухова [и др.] // *Медицинский журнал*. – 2017. – № 3. – С. 136–141.

4. *Polio laboratory manual* / World Health Organization. - 4th ed. – Geneva : WHO, 2004. - 157 p.

5. Poliovirus and polio antibody assay in HEp-2 and Vero cell cultures / P. Albrecht, J. C. Enterline, E. J. Boone, M. J. Klutch // *Journal of Biological Standardization* – 1983. – Vol. 11, № 2. – P. 91–97.

6. Семеновко, Т. А. Сероэпидемиологические исследования в системе надзора за вакциноуправляемыми инфекциями / Т. А. Семеновко, В. Г. Акимкин // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. – 2018. – Т. 95, № 2. – С. 87–94.

7. Фельдман, Э. В. Популяционный иммунитет к полиомиелиту на завершающей стадии ликвидации инфекции в Беларуси / Э. В. Фельдман, Е. О. Самойлович, Е. Ю. Свирчевская // *Здравоохранение*. – 2003. – № 9. – С. 6–10.

8. Популяционный иммунитет населения Республики Беларусь к полиомиелиту / М. А. Ермолович [и др.] // *Современные проблемы инфекционной патологии человека* : сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Респ. науч.-практ. центр эпидемиологии и микробиологии ; под ред. Г. М. Игнатъева. – Минск, 2010. – Вып. 13. – С. 39–45.

9. Nathanson, N. David Bodian's contribution to the development of poliovirus vaccine / N. Nathanson // *American Journal of Epidemiology*. – 2005. – Vol. 161, № 3. – P. 207–212.

10. Evaluation on the effectiveness of the national childhood immunisation programme in Singapore, 1982–2007 / F. Liew, L. W. Ang, J. Cutter [et al.] // *Annals of the Academy of Medicine, Singapore*. - 2010. – Vol. 39, № 7. – P. 532–541.

11. OpenEpi: open source epidemiologic statistics for public health : [website]. – URL: <http://www.openepi.com> (date of access: 09.02.2024).

12. Fine, P. E. Herd immunity: history, theory, practice / P. E. Fine // *Epidemiologic Reviews*. – 1993. – Vol. 15, № 2. – P. 265–302.

Uhava I. F., Yermalovich M. A., Samoilovich E. O.

EVALUATION OF POPULATION IMMUNITY TO POLIOVIRUS SEROTYPE 1 BASED ON DETECTION OF VIRUS NEUTRALIZING ANTIBODIES

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

To assess seroprevalence to poliovirus serotype 1 (hereinafter – PV1), 525 blood sera from residents of the Republic of Belarus aged 1 to 60 years and older were tested in a neutralization reaction with vaccine PV1 in RD cells. The examined individuals were stratified by age groups based on the national history of immunization against poliomyelitis (use of only oral polio vaccine, combined immunization schedule, only inactivated vaccine). Antibodies to vaccine PV1 in the «protective» titer (1 : 8 or more) were detected in 95.23 % of the examined individuals. The proportion of immune subjects in the regions of the country did not differ and amounted to 92.86–98.51 %. More than 70 % of seropositive individuals had antibodies in medium and high titers. Analysis of seroprevalence to PV1 in age groups showed that the lowest level (88 %) was in children 1 to 4 years old that were immunized using only inactivated polio vaccine. Comparative analysis

of the obtained data with previously conducted studies indicates that the seroprevalence to PV1 in the Republic of Belarus is consistently high, despite changes in immunization schedules against polio.

Keywords: poliomyelitis, population immunity, virus neutralizing antibodies.

References

1. Franco-Paredes C., Rodriguez-Morales A. J., Henao-Martínez A. F. et al. The growing threat of wild poliovirus 1 and vaccine-derived cases in the COVID-19 era. *Lancet Infect Dis.* 2022; 22(10): 1412–4.
2. Yermalovich M. A., Samoilovich E. O., Svirchevskaya E. Yu. et al. Dynamics of poliovirus isolation at the time of different vaccination scheme against poliomyelitis in the Republic of Belarus. In: Gorbunov V.A., chief ed. *Sovremennye problemy infekcionnoj patologii cheloveka (Current problems of human infectious pathology)*: sb. nauch. tr. Iss. 12. Minsk; 2019: 155–9. (in Russian)
3. Samoilovich E. O., Svirchevskaya E. Yu., Uhova I. F. et al. Poliomyelitis: Surveillance, vaccinoprophylaxis and laboratory containment of polioviruses in the republic of Belarus. *Med J.* 2017; 3: 136–41. (in Russian)
4. Polio laboratory manual. 4th ed. Geneva: WHO; 2004.
5. Albrecht P., Enterline J. C., Boone E. J. et al. Poliovirus and polio antibody assay in HEp-2 and Vero cell cultures. *J Biol Stand.* 1983; 11(2): 91–7.
6. Semenenko T. A., Akimkin V. G. Seroepidemiology in the surveillance of vaccine-preventable diseases. *J Mikrobiol Epidemiol Immunobiol.* 2018; 95(2): 87–94. (in Russian)
7. Feldman E. V., Samoilovich E. O., Svirchevskaya E. Yu. et al. Population immunity to polio at the final stage of eradication of the infection in Belarus. *Healthcare.* 2003; 9: 6–10. (in Russian)
8. Ermolovich M. A., Svirchevskaya E. Yu., Samoilovich E. O. et al. Herd immunity to poliomyelitis in Belarus. In: Ignatyev G.M. chief ed. *Sovremennye problemy infekcionnoj patologii cheloveka (Current problems of human infectious pathology)*: Collection of scientific papers of the Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology. Iss. 3. Minsk; 2010: 39–45. (in Russian)
9. Nathanson N. David Bodian's contribution to the development of poliovirus vaccine. *Am J Epid.* 2005; 161(3): 207–12.
10. Liew F., Ang L.W., Cutter J. et al. Evaluation on the effectiveness of the national childhood immunization programme in Singapore, 1982–2007. *Ann Acad Med Singap.* 2010; 39(7): 532–41.
11. OpenEpi: Open source epidemiologic statistics for public health. Available at: <http://www.openepi.com> (accessed 09 February 2024).
12. Fine P.E. Herd immunity: History, theory, practice. *Epidemiol Rev.* 1993; 15(2): 265–302.

e-mail для переписки: esamoilovich@gmail.com

Поступила 30.09.2024

УДК 616.34-008.89-093/-098

Шуманская С. Ю., Жизневская А. А., Фомина Е. Г., Дронина А. М., Григорьева Е. Е., Сержан Т. А.¹

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ *GIARDIA LAMBLIA*: МУЛЬТИЛОКУСНОЕ ГЕНОТИПИРОВАНИЕ И РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ГРУПП

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

¹ Коммунальное унитарное предприятие «24-я городская поликлиника спецмедосмотров», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Для описания генетических характеристик *Giardia lamblia*, циркулирующих на территории Республики Беларусь, собрано и исследовано с помощью ПЦР 367 образцов фекалий. В 42 пробах выявлено наличие ДНК *G. lamblia*. Для определения принадлежности ДНК к определенной генетической группе использовалось мультилокусное генотипирование. В исследовании применялся метод ПЦР-ПДРФ специфических локусов: триозофосфатизомеразы (*tpi*), бета-гардина (*bg*) и глутаматдегидрогеназы (*gdh*), чувствительность генов-мишеней составила 83,3, 95,2 и 97,6 % соответственно. Группа А выявлена в 30 образцах (71,4 % случаев) – из них 29 генотипированы как подгруппа All, для 1 образца подгруппа не выявлена; остальные 12 образцов (28,6 %) относятся к группе

В – преобладает подгруппа BIV (8 случаев, 19,1 %), к VIII относится 1 образец, для 2 образцов подгруппа не выявлена.

Ключевые слова: лямблиоз, инвазия, простейшее, генетическая группа, комплекс, ассамблея, ПЦР, мультилокусное генотипирование, ПЦР-ПДРФ.

Введение. Лямблиоз является одной из наиболее часто встречающихся паразитарных инвазий. Заболевание вызывает двуядерное жгутиковое простейшее *Giardia lamblia* – основной возбудитель невирусных диарей у человека, также способный поражать различные виды млекопитающих. Распространенность лямблиоза среди населения колеблется от 2 % в развитых странах до 70 % в развивающихся [1].

Для понимания динамики распространения лямблиоза в популяциях людей и животных и их взаимосвязи необходимо сформулировать представление о генетических характеристиках простейшего *G. lamblia*. Согласно научным данным, из 8 генетических групп (синонимы: комплексы, ассамблеи, сборки) *G. lamblia* от А до Н в популяции человека циркулируют преимущественно комплексы А и В, в то время как комплексы от С до Н распространены среди различных видов млекопитающих. Встречается все больше сведений о выявлении у людей несвойственных им изолятов других комплексов простейшего (Е, С, D или F), а также смешанных инвазий, а у животных – комплексов А и В [2, 3]. Внутри генетических групп А и В также существует разнообразие – фенотипически неразличимые подгруппы AI, AII, AIII и BIII, BIV.

В настоящее время существует неопределенность в отношении распространения генетических ассамблей *G. lamblia* по всему миру, что, главным образом, связано с ограниченными молекулярно-эпидемиологическими исследованиями и отсутствием стандартизированной методологии. Противоречивые сведения также могут быть связаны с наличием или отсутствием симптомов заболевания, особенностями эпидемиологического слежения за лямблиозом, характеристиками восприимчивых организмов и др. [4]

Для изучения генетических особенностей *G. lamblia*, как и других микроорганизмов, применяются молекулярно-генетические методы исследования, такие как полимеразная цепная реакция (далее – ПЦР), анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (далее – ПДРФ), секвенирование и др. Эти высоко чувствительные и специфичные методы позволяют определить не только наличие возбудителя, но и его генетическую группу и подгруппу, в отличие от «традиционной» микроскопии или иммуноферментного анализа.

Несмотря на то что в научных исследованиях используется множество локусов для генотипирования *G. lamblia*, а также ведется поиск новых, более чувствительных генов-мишеней, «классическими» для исследования продолжают оставаться локусы триозофосфатизомеразы (*tpi*), бета-гардина (*bg*) и глутаматдегидрогеназы (*gdh*) [1]. Для минимизации влияния неблагоприятных факторов в исследованиях используется мультилокусное генотипирование.

Одним из первых молекулярных инструментов, применявшихся для проведения генотипирования *G. lamblia*, являлся метод определения полиморфизма длин рестрикционных фрагментов на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР-ПДРФ). К его преимуществам относятся более высокая вероятность выявления смешанных инвазий, которые не всегда можно определить с помощью стандартной ПЦР, а также низкая стоимость по сравнению с затратами на более современные методы, такие как секвенирование. К недостаткам ПЦР-ПДРФ можно отнести неспособность определения генетических полиморфизмов и упущение новых комплексов.

В настоящее время приоритетными задачами в понимании генетических особенностей *G. lamblia* являются выявление новых локусов и стандартизация используемых для генотипирования методов.

Описание генетических групп *G. lamblia*, циркулирующих в популяции людей в Республике Беларусь, ранее не осуществлялось. Опубликованы единичные исследования о распространенности генетических групп А и В у людей в Российской Федерации [5], Эстонии, Венгрии и Чехии [6].

Цель работы – дать характеристику генетическим группам *G. lamblia*, циркулирующим на территории Беларуси при помощи мультилокусного генотипирования посредством ПЦР-ПДРФ анализа специфических локусов триозофосфатизомеразы (*tpi*), бета-гардина (*bg*) и глутаматдегидрогеназы (*gdh*).

Материалы и методы. В общей сложности было собрано и исследовано 367 образцов фекалий, полученных из организаций Беларуси (УЗ «Городская детская инфекционная клиническая больница», КУП «24-я городская поликлиника спецмедосмотров», ГУ «Минский городской центр гигиены и эпидемиологии» и инновационной лаборатории научно-исследовательского института гигиены, токсикологии, эпидемиологии, вирусологии и микробиологии государственного учреждения «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья»).

В качестве пробоподготовки перед экстракцией генетического материала образцы разводились в соотношении 1 : 1 (100 мкг фекалий гомогенизировали в 100 мкл стерильного физиологического раствора, в методике использовалось 100 мкл полученной смеси). Дополнительно в каждую пробу вводился экзогенный внутренний контроль из набора для ПЦР-диагностики, что позволяло отслеживать влияние ингибиторов ПЦР на амплификацию.

Выделение ДНК осуществлялось с помощью метода экстракции генетического материала на сорбенте с использованием коммерческих наборов реагентов «S-Сорб» (Синтол, Российская Федерация) и «ДНК-сорб-В» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Российская Федерация). В более ранних исследованиях авторами было установлено, что данный метод является наиболее оптимальным по соотношению затраченных усилий, качества и количества получаемой ДНК *G. lamblia* из фекалий [7].

Подтверждение наличия в выделенных образцах ДНК *G. lamblia* проводилось при помощи метода ПЦР в реальном времени с использованием отечественного набора для генодиагностики *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum*, *Entamoeba histolytica* «Прото-ПЦР/РВ» (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Республика Беларусь) с обязательным 10-кратным разведением генетического материала до проведения исследования для снижения влияния ингибиторов на ПЦР. Постановку ПЦР осуществляли на термоциклере Quant Studio 5.0 (Applied Biosystems, США). Обработку полученных данных проводили в программной среде Quant Studio Design and Analysis Software 1.3.1 (Applied Biosystems, США).

Генетическая группа определялась с помощью мультилокусного генотипирования методом ПЦР-ПДРФ по «классическим» локусам *tpi*, *bg* и *gdh*. Опытным путем установлено, что в генотипировании предпочтительно использовать неразведенную ДНК.

Для амплификации фрагмента гена *tpi* использовалась специфическая пара праймеров Forward (5'-TGGACTGGCGAGACAAG-3') и Reverse (5'-TCCGGCTTGAGGGAAGC-3') [8]. Для гена *bg* проводилась гнездовая ПЦР с двумя парами праймеров: на первом этапе использовалась пара G7 (5'-AAGCCCGACGACCTCACCCGAGTGC-3') и G759 (5'-GAGGCCGCCCTGGATCTTCGAGACGAC-3'), на втором этапе – пара G99 (5'-GAACGAGATCGAGGTCCG-3') и G609 (5'-CTCGACGAGCTTCGTGTT-3') [9]. Для амплификации гена *gdh* применялась полугнездовая ПЦР, где использовалось два прямых праймера – GDHeF (5'-TCAACGTAAAYCGYGGYTTCCGT-3') и GDHiF (5'-CAGTACAACCTCYGCTCTCCG-3') и один обратный – GDHiR (5'-GTTTRCCTTGACATCTCC-3') [10]. Олигонуклеотиды синтезировались ОДО «Праймтех», Республика Беларусь.

ПЦР проводилась в объеме 25 мкл, реакционная смесь включала: 10 пмоль праймеров, 2,5 мкл буфера 10 х, 0,2 мМ смеси дНТФ, 1,25 ед. полимеразы ArtStart (АртБиоТех, Республика Беларусь), 2–4 мМ MgCl₂. Концентрация MgCl₂ варьировала – для некоторых образцов необходимо было повышенное содержание ионов магния для успешной ПЦР.

Программа ПЦР: первичная денатурация 95 °С – 5 мин; 35 циклов: денатурация 95 °С – 20 с, отжиг праймеров t °С – 30 с, элонгация 72 °С – 20 с; досинтез 72 °С – 7 мин. Температура отжига праймеров для амплификации фрагмента *tpi* (Forward/Reverse) и *bg* (G7/G759 и G699/G609) составила 60 °С, для *gdh* (GDHeF, GDHiF/GDHiR) – 56 °С.

Анализ продуктов амплификации и рестрикции осуществляли методом горизонтального электрофореза в 1,5–2 % агарозном геле с использованием ДНК маркеров молекулярных масс Step100 long (Биолабмикс, Российская Федерация). В случае успешной амплификации гена *tpi* на электрофореграмме виден фрагмент длиной 509 п. н., *bg* – 753 п. н. (1 этап ПЦР) и 511 п. н. (2 этап ПЦР), *gdh* – 458 п. н. (1 этап ПЦР) и 432 п. н. (2 этап ПЦР), таблица 1. Рестриктию полученных ампликонов проводили с помощью специфических эндонуклеаз рестрикции Sfr274I (для *tpi*), HaeIII (для *bg*), PspN4I и RsaI (для *gdh*).

В качестве положительного контроля при проведении ПЦР-ПДРФ использовались образцы ДНК с подтвержденным генотипом А и В, полученные из Public Health Wales Microbiology Swansea.

Локусы *tpi* и *bg* позволяют отнести образцы *G. lamblia* к сборке А или В. Последовательности гена *tpi* отличаются наличием одного сайта рестрикции в случае сборки В, при этом ампликон 509 п. н. фрагментируется на два: длиной 220 и 289 п. н. Ген *bg* позволяет различить генетические группы по наличию рестрикционного фрагмента длиной 200 п. н. у группы А. В то же время локус *gdh* позволяет определить не только группу, но и подгруппу. Обработка ПЦР-продукта эндонуклеазой PspN4I разделяет образцы на AI, AII и В. Для того чтобы выявить разнообразие среди группы В, необходимо дополнительно провести ПДРФ-анализ В-образцов с помощью эндонуклеазы RsaI – сайт рестрикции присутствует только у подгруппы VIII. Ожидаемые фрагменты продуктов ПЦР и ПДРФ-анализа по целевым локусам представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Ожидаемые результаты мультилокусного генотипирования *G. lamblia* методом ПЦР-ПДРФ

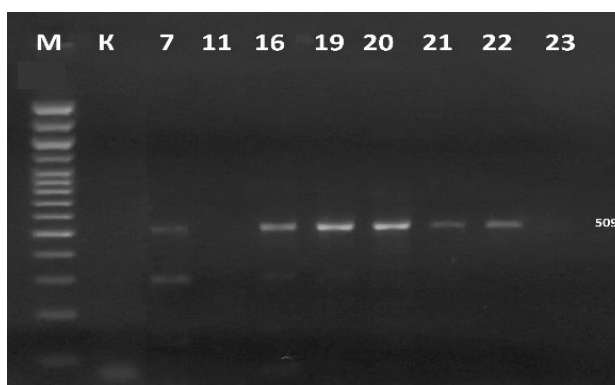
Локус		<i>tpi</i>	<i>bg</i>		<i>gdh</i>	
Праймеры		Forward/ Reverse [8]	G7/ G759 [9]	G99/ G609 [9]	GDHeF/ GDHiR [10]	GDHiF/ GDHiR [10]
Размер ПЦР-продукта, п. н.		509	753	511	458	432
Эндонуклеаза рестрикции		Sfr274I	HaeIII		PspN4I	RsaI
Рестрикционные фрагменты, п. н.	Сборка А	509	201, 150, 108, 52		AI – 146, 123, 87, 39, 21, 16 AII – 123, 87, 77, 69, 39, 21, 16	–
	Сборка В	289, 220	150, 117, 108, 84, 28, 24		288, 123, 21	BIII – 301, 131 BIV – 432
Профиль генотипирования, п. н.	Сборка А	510	200, 150, 110		AI – 150, 120, 90 AII – 120, 90-70	–
	Сборка В	290, 220	150, 110, 80		В – 290, 120	BIII – 300, 130 BIV – 430

Результаты и их обсуждение. В ходе исследования в 42 пробах было выявлено наличие ДНК *G. lamblia*. При оценке имеющейся информации о положительных образцах установлено, что 30 положительных проб, или 71,4 % от общего количества, принадлежали мужчинам, 7 образцов, или 16,7 %, – женщинам, о 5 пробах, или 11,9 %, информация отсутствовала. Среди положительных образцов большинство было получено от пациентов в возрасте от 30 до 39 лет (13 проб, или 31 %) и от 18 до 29 лет (10 проб, или 23,8 %); от пациентов в возрасте от 50 до 59 лет – 7 проб, или 16,7 %; от 40 до 49 лет – 6 проб, или 14,3 %; старше 60 лет – 1 проба, или 2,4 %. Информация о возрасте 5 пациентов отсутствовала (11,8 % от общего количества положительных проб).

Многие исследования, характеризовавшие *G. lamblia* лишь по одному гену-мишени, показали противоречивые результаты, поэтому в данном исследовании использовалось мультилокусное генотипирование с применением метода ПЦР-ПДРФ по генам *tpi*, *bg* и *gdh*.

Использование в первую очередь локуса *tpi*, на первый взгляд, казалось оптимальным в связи с проведением одноэтапной ПЦР. Однако из 42 образцов ДНК *G. lamblia* определить генетическую группу с использованием *tpi* удалось лишь в 35 образцах (83,3 %).

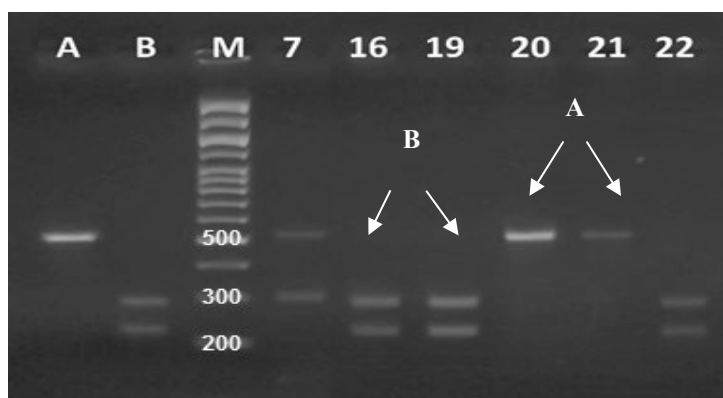
Так, в ходе амплификации с праймерами Forward/Reverse при визуализации результатов на 1,5 % агарозном геле обнаруживались специфические продукты амплификации протяженностью в 509 п. н., рисунок 1.



М – маркер молекулярных масс Step100 long; К – отрицательный контроль; 7–23 – номера образцов.

Рисунок 1 – Электрофореграмма продуктов ПЦР гена *tpi*

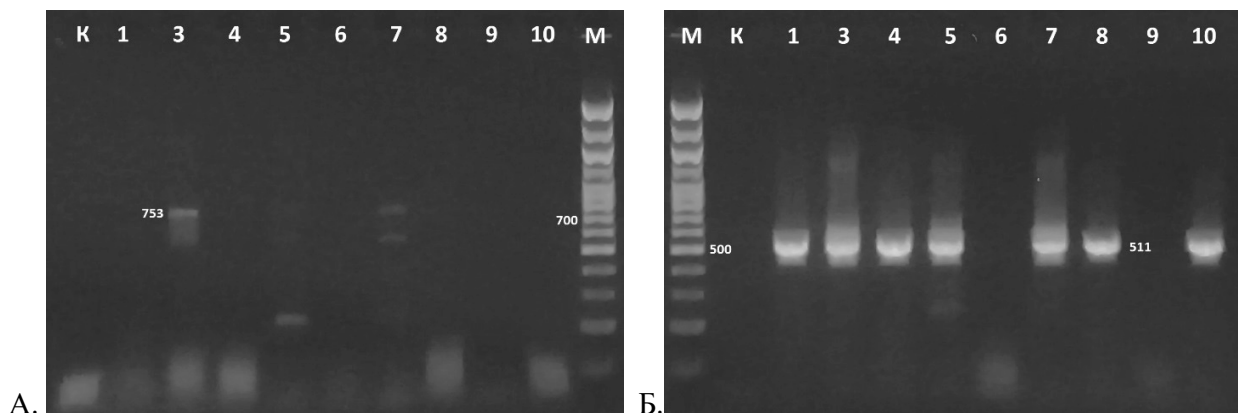
Фекальные образцы – сложный для исследования материал, который богат как ингибиторами ПЦР, так и разнообразным генетическим материалом, что объясняет наличие на электрофореграмме дополнительных неспецифических фрагментов (7 образцов) или же отсутствие каких-либо фрагментов (образцы 11 и 23). Для таких образцов корректировались условия амплификации, в частности – изменение концентрации $MgCl_2$ в ПЦР-смеси. Получить целевые ампликоны удалось для 35 из 42 образцов. Для них далее проводился ПДРФ-анализ, в ходе которого 26 (61,9 %) были отнесены к группе А, 9 (21,4 %) – к группе В. Пример рестрикционного анализа представлен на рисунке 2.



М – маркер молекулярных масс Step100 long; А и В – положительные контроли для генетических групп; 7–22 – номера образцов.

Рисунок 2 – Электрофореграмма продуктов рестрикции *tri*-фрагментов

Генотипирование при помощи локуса *bg* являлось более трудоемкой задачей в связи с необходимостью проведения гнездовой ПЦР. Амплификаты первого этапа практически не визуализируются с помощью электрофореза, однако минимального количества специфической ДНК достаточно для того, чтобы на втором этапе синтезировался специфический фрагмент размером 511 п. н. Полученные результаты амплификации наглядно демонстрируют необходимость использования гнездовой ПЦР для локуса *bg*, рисунок 3 А и Б. Для образцов, где второй этап ПЦР не привел к синтезу фрагмента, дополнительно оптимизировались условия (варьирование концентрации ионов Mg^{2+} и температурного режима отжига праймеров как в сторону увеличения, так и в сторону уменьшения).



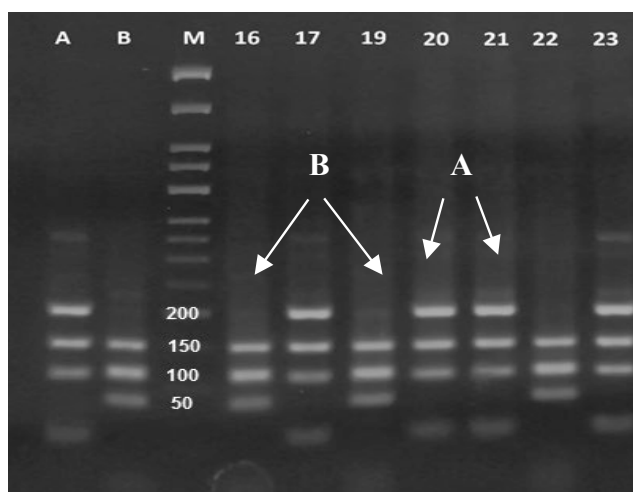
М – маркер молекулярных масс Step100 long; К – отрицательный контроль; 1–10 – номера образцов.

Рисунок 3 – Электрофореграмма амплификатов гена *bg* после первого (А) и второго (Б) этапов ПЦР

Для идентификации генетической группы при рестриционном анализе определяющим являлся фрагмент в 201 п. н., визуализация которого давала отчетливое представление об отношении к комплексу А, рисунок 4. Получить фрагменты для ПДРФ-анализа удалось для 40 из 42 образцов.

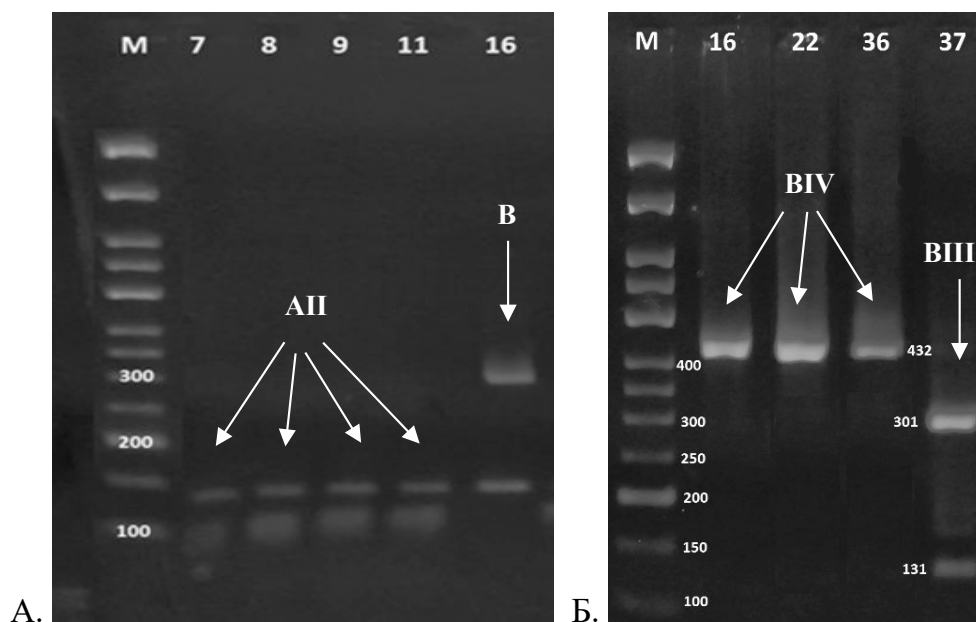
Приоритетным в нашем исследовании являлось использование гена *gdh*, который позволил идентифицировать как группу, так и подгруппу *G. lamblia*. Локус оказался наиболее чувствительным – результат удалось получить для 41 образца (97,6 % случаев).

После обработки ПЦР-продуктов эндонуклеазой рестрикции *PspN4I* были выявлены образцы группы А подгруппы АII и группы В. Репрезентативные результаты представлены на рисунке 5 А, на котором отчетливо прослеживается принадлежность образца № 16 к генетической группе В по наличию фрагмента длиной 288 п. н. Отсутствует возможность демонстрации на электрофорезе фрагментов для АI, т. к. в ходе исследования образцов, относящихся к данной подгруппе, выявлено не было. Для дифференцировки АI от АII основным является фрагмент протяженностью в 146 п. н.: у подгруппы АII этот фрагмент имеет дополнительный сайт рестрикции, способствующий гидролизу на фрагменты в 77 и 69 п. н.



М – маркер молекулярного веса Step50 plus;
 А и В – положительные контроли;
 16–23 – номера образцов.

Рисунок 4 – Электрофореграмма продуктов рестрикции *bg*-фрагментов



М – маркер молекулярного веса Step50 plus; 7– 37 – номера образцов.

Рисунок 5 – Электрофореграмма продуктов рестрикции *gdh*- фрагментов после обработки PspN4I (А) и RsaI (Б)

Использование эндонуклеазы RsaI для образцов, генотипированных как геногруппа В, позволяет выявить генетическое разнообразие внутри группы: в последовательностях VIII есть сайт рестрикции, делящий ПЦР-продукт на фрагменты 131 и 301 п. н., который отсутствует у подгруппы BIV, рисунок 5 Б. Из 12 образцов группы В после обработки эндонуклеазой RsaI удалось отнести 8 образцов к генетической подгруппе BIV и 1 образец – к VIII.

Полученные данные о принадлежности к определенной генетической группе *G. lamblia* для всех генотипированных образцов по трем локусам были полностью сопоставимы. При этом 33 образца (78,6 %) удалось генотипировать по всем трем локусам, 8 (19,1 %) – по двум и 1 образец (2,3 %) – по одному локусу *gdh*.

Таким образом, к генетической группе А относилось 30 выделенных образцов ДНК *G. lamblia*, что составило 71,4 % от общего количества, на комплекс В приходилось 12 образцов – 28,6 %. В научных публикациях встречаются сведения о наибольшей распространенности подгруппы АII как основного циркулирующего варианта в популяции человека [3], что коррелирует с полученными нами сведениями – 29 из 30 выделенных проб ДНК комплекса А относится к генетической подгруппе АII.

В отношении генетических групп В предполагалось большее распространение благодаря широкому кругу основных хозяев – человек, животные-компаньоны, сельскохозяйственные и дикие животные. Однако, по полученным данным, из 42 выделенных ДНК *G. lamblia* только 12 относились к генетическому комплексу В. Преобладала подгруппа ВIV – 8 проб (19,1 % от общего количества положительных образцов); в 1 случае выявлялась подгруппа ВIII (2,4 % от общего количества положительных образцов); в 3 пробах определена принадлежность к генетической группе В, но установить подгруппу не удалось.

Заключение. Мультилокусное генотипирование с применением ПЦР-ПДРФ позволило определить принадлежность к генетической группе ДНК *G. lamblia* в 100 % случаев. Генетическая группа А выявлена в 71,4 % случаев, В – в 28,6 %. Установлено доминирование вариантов подгруппы АII генетической группы А (69,1 % от общего количества). Не удалось подтвердить предположение, что большее распространение имеет генетическая группа В.

В результате проведенных исследований, наиболее часто встречающимся генетическим комплексом *G. lamblia* является группа А, подгруппа АII, что коррелирует с данными опубликованными в исследованиях в других странах Европы.

Применение молекулярно-генетических методов для выявления и исследования *G. lamblia* в Республике Беларусь позволит внедрить молекулярно-эпидемиологический мониторинг за распространением возбудителей лямблиоза, расширить представление о распространенности генетических групп у человека и животных, степени генетического разнообразия, патогенности *G. lamblia*, выявить новые генетические маркеры для диагностики, установления источников инвазии и определения генов резистентности к противопротозойным препаратам, выявить ранее не изученные факторы риска распространения инвазии.

Сведения о НИР. НИР «Изучить молекулярно-генетические характеристики *Giardia lamblia*, циркулирующих на территории Республики Беларусь» подпрограммы «Фундаментальные аспекты медицинской науки» ГПНИ «Трансляционная медицина», 2021 – 2025 годы, регистрационный номер 20220148.

Литература

1. The controversies surrounding *Giardia intestinalis* assemblages A and B / P. Zajackowski, R. Lee, S. M. Fletcher-Lartey [et al.] // *Current Research in Parasitology & Vector-Borne Diseases*. – 2021. – Vol. 1. – DOI: 10.1016/j.crvbd.2021.100055.

2. Zahedi, A. Molecular typing of *Giardia duodenalis* in humans in Queensland – first report of Assemblage E / A. Zahedi, D. Field, U. Ryan // *Parasitology*. – 2017. – Vol. 114, № 9. – P. 1154–1161.

3. Prevalence, risk factors and multilocus genotyping of *Giardia intestinalis* in dairy cattle, Northwest China / X.-X. Zhan, Q.-D. Tan, G.-H. Zhao [et al.] // *The Journal of Eukaryotic Microbiology*. – 2016. – Vol. 63, № 4. – P. 498–504.

4. First multilocus sequence typing (MLST) of *Giardia duodenalis* isolates from humans in Romania / C. Costache, Z. Kalmár, H. A. Colosi [et al.] // *Parasites & Vectors*. – 2020. – Vol. 13, № 1. – DOI: 10.1186/s13071-020-04248-2.

5. Курносова, О. П. Определение генотипов *Lambliia duodenalis* у инвазированных лямблиозом людей в городе Москве / О. П. Курносова, И. М. Одоевская, К. С. Красавченко // *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. – 2015. – № 3. – С. 21–24.

6. Extensive testing of a multi-locus sequence typing scheme for *Giardia duodenalis* assemblage A confirms its good discriminatory power / C. Klotz, A. R. Sannella, F. Weisz [et al.] // *Parasites & Vectors*. – 2022. – Vol. 15, № 1. – DOI: 10.1186/s13071-022-05615-x.

7. Сравнительный анализ методов выделения генетического материала из фекальных образцов и пути оптимизации молекулярно-генетической диагностики лямблиоза / С. Ю. Шуманская, Е. Е. Григорьева, А. М. Дронина, Е. Г. Фомина // *Лабораторная диагностика. Восточная Европа*. – 2024. – Т. 13, № 1. – С. 103–115.

8. Classification of *Giardia duodenalis* parasites in Turkey into Groups A and B using restriction fragment length polymorphism / A. F. Aydin, B. A. Besirbellioglu, I. Y. Avci [et al.] // *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. – 2004. – Vol. 50, № 1. – P. 147–151.

9. Genetic heterogeneity at the b-giardin locus among human and animal isolates of *Giardia duodenalis* and identification of potentially zoonotic subgenotypes / M. Lalle, E. Pozio, G. Capelli [et al.] // *International Journal for Parasitology*. – 2005. – Vol. 35, № 2. – P. 207–213.

10. Read, C. M. Discrimination of all genotypes of *Giardia duodenalis* at the glutamate dehydrogenase locus using PCR-RFLP / C. M. Read, P. T. Monis, R. C. Thompson // *Infection, Genetics and Evolution*. – 2004. – Vol. 4, № 2. – P. 125–130.

Shumanskaya S. Yu., Zhyzneuskaya A. A., Fomina E. G.,
Dronina A. M., Grigorieva E. E., Serzhan T. A.¹

MOLECULAR EPIDEMIOLOGY OF GIARDIA LAMBLIA: MULTILOCUS GENOTYPING AND PREVALENCE OF GENETIC GROUPS

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

¹ Municipal Unitary Enterprise «24th City Polyclinic of Special Medical Examinations», Minsk, Belarus

To describe the genetic characteristics of *Giardia lamblia* circulating on the territory of the Republic of Belarus, 367 fecal samples were collected and examined by PCR. The presence of *G. lamblia* DNA was detected in 42 samples. Multilocus genotyping was used to determine the DNA belonging to a certain genetic group. PCR-RFLP method of specific loci: triosephosphate isomerase (tpi), beta-giardin (bg) and glutamate dehydrogenase (gdh) was used in the study, the sensitivity of target genes was 83.3, 95.2 and 97.6 %, respectively. Group A was detected in 30 samples (71.4 % of cases) – 29 of them were genotyped as subgroup AII, for 1 subgroup was not identified; the remaining 12 samples (28.6 %) belonged to group B – subgroup BIV predominated (8 cases, 19.1 %), 1 sample belonged to BIII, for 2 samples subgroup was not identified.

Keywords: giardiasis, invasion, protozoa, genetic group, complex, assemblage, PCR, multilocus genotyping, PCR-RFLP.

References

1. Zajaczkowski P., Lee R., Fletcher-Lartey S. M. et al. The controversies surrounding *Giardia intestinalis* assemblages A and B. *Curr Res Parasitol Vector Borne Dis*. 2021; 1. DOI: 10.1016/j.crvbd.2021.100055.

2. Zahedi A., Field D., Ryan U. Molecular typing of *Giardia duodenalis* in humans in Queensland – first report of Assemblage E. *Parasitology*. 2017; 114: 1154–61.

3. Zhang X. X., Tan Q. D., Zhao G. H. et al. Prevalence, risk factors and multilocus genotyping of *Giardia intestinalis* in dairy cattle, Northwest China. *J Eukaryot Microbiol*. 2016; 63(4): 498–504.

4. Costache C., Kalmár Z., Colosi H. A. et al. First multilocus sequence typing (MLST) of *Giardia duodenalis* isolates from humans in Romania. *Parasit Vectors*. 2020; 13(1). DOI: 10.1186/s13071-020-04248-2.

5. Kurnosova O. P., Odoevskaya I. M., Krasavchenko K. S. Determination of *Giardia Duodenalis* genotypes in lamblia-infested people in the city of Moscow. *Med Parazitol Parasit Dis*. 2015; 3: 21–4. (in Russian)

6. Klotz C., Sannella A. R., Weisz F. et al. Extensive testing of a multi-locus sequence typing scheme for *Giardia duodenalis* assemblage A confirms its good discriminatory power. *Parasit Vectors*. 2022; 15(1). DOI: 10.1186/s13071-022-05615-x.

7. Shumanskaya S. Yu., Grigorieva E. E., Dronina A. M., Fomina E. G. Comparative analysis of genetic material extraction methods from fecal samples and optimization ways for molecular genetic diagnosis of Giardiasis. *Lab Diagnostics East Eur*. 2024; 13(1): 103–14. (in Russian)

8. Aydin A. F., Besirbellioglu B. A., Avci I. Y. et al. Classification of *Giardia duodenalis* parasites in Turkey into groups A and B using restriction fragment length polymorphism. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2004; 50(2): 147–51.

9. Lalle M., Pozio E., Capelli G. et al. Genetic heterogeneity at the beta-giardin locus among human and animal isolates of *Giardia duodenalis* and identification of potentially zoonotic subgenotypes. *Int J Parasitol*. 2005; 35(2): 207–13.

10. Read C. M., Monis P. T., Thompson R. C. Discrimination of all genotypes of *Giardia duodenalis* at the glutamate dehydrogenase locus using PCR-RFLP. *Infect Genet Evol*. 2004; 4(2): 125–30.

e-mail для переписки: s.shumanskaia@mail.ru

Поступила 01.10.2024

Раздел 10

МЕДИЦИНСКАЯ ВИРУСОЛОГИЯ

УДК [616.61+616.36]-089.843:578.834.1SARS-CoV-2:612.017.1

*Амвросьева Т. В., Богуш З. Ф., Бельская И. В., Поклонская Н. В., Калачик О. В.¹,
Комиссаров К. С.¹, Чеботарева Т. К.¹, Щерба А. Е.¹, Фролова М. А.¹*

АВИДНОСТЬ ПОСТИНФЕКЦИОННЫХ И ПОСТВАКЦИНАЛЬНЫХ IGG K SARS-COV-2 У РЕЦИПИЕНТОВ ПОЧКИ И ПЕЧЕНИ

*Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии
и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь*

*¹ Государственное учреждение «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии
и гематологии», г. Минск, Республика Беларусь*

Аннотация. Работа посвящена изучению avidности постинфекционных и поствакцинальных анти-SARS-CoV-2 IgG у реципиентов почки и печени. Установлено, что в период реконвалесценции медианные значения индекса avidности (далее – ИА) составили 56,0 % реципиентов печени против 28,0 % – у реципиентов почки. В данной когорте пациентов вакцинация приводила к более высоким уровням медианных ИА как у реципиентов почки (77,0 % против 28,0 %), так и у реципиентов печени (77,0 % против 56,0 %). У привитых реципиентов обеих групп более высокие показатели avidности противовирусных антител наблюдались после их иммунизации вакциной Спутник V, чем после Vero Cell (медианные ИА у реципиентов почки – 82,0 % и 62,0 % соответственно; у реципиентов печени – 77,0 % и 27,0 % соответственно). После вакцинации Спутник V достоверные различия в частоте регистрации анти-SARS-CoV-2 IgG высокой и низкой avidности ($p < 0,001$) отмечались вне зависимости от иммунного статуса реципиентов перед иммунизацией, в то время как при использовании Vero Cell достоверная разница между данными показателями наблюдалась лишь у пациентов с гибридным иммунитетом (перенесших COVID-19 перед вакцинацией).

Ключевые слова: COVID-19, иммунитет, противовирусные IgG, avidность, реципиенты почки и печени.

Введение. На сегодняшний день проведено множество исследований, направленных на изучение гуморального иммунного ответа против COVID-19, первоначально посвященных изучению серопревалентности к SARS-CoV-2, кинетике противовирусных антител и длительности их сохранения. С началом циркуляции SARS-CoV-2 Omicron B.1.1.529 и его нисходящих линий общая частота реинфекции, которая регистрировалась в первые четыре волны на уровне 0,2–1,5 %, возросла до 3,8–11,5 % даже в условиях сформированной высокой иммунной прослойки среди населения [1–3]. Быстрое распространение геноварианта Omicron и вытеснение ранее доминирующего геноварианта Delta (B.1.617.2) было связано с изменением конформации его RBD сайта, что привело к значительному повышению аффинности комплекса «антиген-клеточный рецептор ACE2». Это негативно отразилось на способности уже циркулирующих в организме противовирусных антител (далее – АТ) нейтрализовать вирус из-за конкурентных отношений [4, 5]. Поскольку комплекс RBD-ACE2 имеет высокую термодинамическую константу связывания, то только АТ, имеющие более высокую аффинность, могут вступать в конкурентные отношения и блокировать антиген, таким образом проявляя нейтрализующую активность [6]. Характеристика прочности связи между антигеном и АТ может выступать прогностическим маркером повторного заболевания, предоставляя ценную информацию о необходимости вакцинации первично иммунизированного лица. Для этих целей используется определение такого параметра, как avidность АТ, которая отражает совокупную аффинность (силу связывания) АТ и антигена. Показатель avidности увеличивается по мере созревания В-лимфоцитов, что занимает около 3–4 месяцев. При этом АТ некоторых иммунизированных лиц не способны к формированию прочной связи с антигеном даже по истечении времени, необходимого для созревания В-лимфоцитов [6]. Следовательно, данная группа лиц подвержена риску повторного заболевания и/или его негативного исхода. Особый интерес в данном отношении представляют реципиенты солидных органов, которые относятся к группе иммунокомпрометированных лиц, иммунный ответ которых может быть нестандартным вследствие регулярного применения иммуносупрессивных препаратов.

Цель работы – сравнительное изучение avidности постинфекционных и поствакцинальных IgG к SARS-CoV-2 у реципиентов почки и печени с разным анамнезом их приобретения.

Материалы и методы. В исследование были включены реципиенты почки и печени старше 18 лет с ПЦР подтвержденным диагнозом COVID-19 либо вакцинированные Спутник V или Vero Cell в срок не ранее 3 месяцев после трансплантации, находящихся под наблюдением в Минском НПЦ хирургии, трансплантологии и гематологии.

Все участники серологического мониторинга дали информированное согласие на участие в исследовании.

Определение индекса avidности противовирусных IgG к S белку (включая RBD) SARS-CoV-2 и их концентрации осуществляли в группах реципиентов почки (n = 153) и печени (n = 27) со сформированным постинфекционным иммунитетом, а также в группах реципиентов почки (n = 49) и печени (n = 17) со сформированным поствакцинальным иммунитетом. Всего проанализировано 268 образцов сывороток крови, заведомо содержащих противовирусные АТ.

Для определения напряженности постинфекционного/поствакцинального иммунитета, сформированного на S белок (включая RBD) SARS-CoV-2, использовали наборы «SARS-CoV-2-IgG количественный-ИФА-БЕСТ» (Вектор-Бест, Россия). Постановку ИФА выполняли в соответствии с инструкцией производителей. По результатам теста концентрации противовирусных АТ в пределах 10–100 BAU/ml считали низкими, 101–300 BAU/ml – средними, ≥ 301 BAU/ml – высокими.

ИА IgG к S белку (включая RBD) SARS-CoV-2 определяли с использованием методики (СОП «Определение avidности IgG к поверхностному гликопротеину S (spike) SARS-CoV-2, включая рецептор-связывающий домен RBD, методом иммуноферментного анализа, утверждена 09.01.2023). Протокол анализа avidности был аналогичен схеме серологического анализа с включением дополнительной ступени обработки хаотропным агентом (5 М мочевины). Оценку общей силы связывания проводили после дестабилизации комплекса антиген-антитело в течение 15 мин, измерив долю оставшихся АТ. ИА рассчитывали по формуле (1):

$$IA = (\text{ОП в лунке «диссоциации»} / \text{ОП в «интактной» лунке}) \times 100 \%, \quad (1)$$

где ИА – индекс avidности;

ОП – оптическая плотность образца.

Образец считался содержащим IgG низкой avidности при $IA \leq 30 \%$, высокой avidности – при $IA \geq 50 \%$; при ИА от 30 до 50 % – IgG средней avidности.

Достоверные интервалы для пропорций рассчитывали по методу Вальда. Достоверность обнаруживаемых различий оценивали по методу χ^2 , а также используя U-критерий Манна – Уитни.

Результаты и их обсуждение.

Параметры avidности постинфекционных противовирусных АТ у реципиентов почки и печени. В исследовании на avidность анти-SARS-CoV-2 IgG были задействованы реципиенты, сыворотки крови которых заведомо содержали противовирусные АТ, сформированные на S белок (включая RBD) вируса при первичном исследовании после однократно перенесенного COVID-19 (спустя 21 сутки и более от начала появления клинических симптомов). Демографические характеристики данных групп реципиентов представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Демографические характеристики групп переболевших COVID-19 реципиентов, участвовавших в серологическом тестировании

Параметр оценки	Доля реципиентов со сформированным постинфекционным иммунитетом против COVID-19	
	реципиенты почки (n = 153), %	реципиенты печени (n = 27), %
Возраст		
18–34 года	16,3	3,7
35–49 лет	38,6	18,5
50–64 года	37,3	63,0
более 64 лет	7,8	14,8
Пол		
женщины	46,4	63,0
мужчины	53,6	37,0

Средний показатель ИА постинфекционных противовирусных IgG к S белку (включая RBD) SARS-CoV-2 в группе реципиентов почки был ниже по сравнению с таковым у реципиентов печени – 34,9 % (медиана 28,0 %) против 49,3 % (медиана 56,0 %). При этом частота выявления анти-SARS-CoV-2 IgG низкой, средней и высокой avidности у реконвалесцентов почки составила 52,9, 17,6 и 29,4 % соответственно, у реципиентов печени – 44,4, 3,7 и 51,9 % соответственно (таблица 2). У реципиентов почки, в отличие от реципиентов печени, частота выявления противовирусных АТ высокой avidности (29,4 %) была достоверно ниже по сравнению с частотой регистрации АТ низкой avidности (52,9 %), $p < 0,001$.

Таблица 2 – Частота выявления высоко-, средне- и низкоавидных IgG к S белку (включая RBD) SARS-CoV-2 у реконвалесцентов в зависимости от тяжести течения инфекции

Показатели ИА противовирусных IgG к S белку (включая RBD) SARS-CoV-2	Частота выявления низко-, средне- и высокоавидных АТ, %		
	в группе реконвалесцентов в целом	у реципиентов с легкой формой течения инфекции	у реципиентов со среднетяжелой и тяжелой формой течения инфекции
Реципиенты почки	n = 153	n = 63	n = 90
АТ низкой avidности IA ≤ 30 %	52,9 [45,1; 60,7]	58,7 [46,4; 70,1]	48,9 [38,8; 59,1]
АТ средней avidности 30 % < IA < 50 %	17,6 [12,4; 24,5]	11,1 [5,2; 21,5]	22,2 [14,8; 31,2]
АТ высокой avidности IA ≥ 50 %	29,4 [22,8; 37,1]	30,2 [20,2; 42,4]	28,9 [20,5; 39,0]
Реципиенты печени	n = 27	n = 22	n = 5
АТ низкой avidности IA ≤ 30 %	44,4 [27,6; 62,7]	45,5 [26,9; 65,4]	40,0 [11,6; 77,1]
АТ средней avidности 30 % < IA < 50 %	3,7 [0; 19,8]	4,6 [0; 23,5]	–
АТ высокой avidности IA ≥ 50 %	51,9 [34,9; 69,3]	50,0 [30,7; 69,3]	60,0 [22,9; 88,4]

Достоверных различий в частоте регистрации высоко-, средне- и низкоавидных АТ, в зависимости от формы течения инфекции, как в группе реципиентов почки, так и среди реципиентов печени выявлено не было. Однако у реципиентов почки доли пациентов с высокоавидными АТ как при легком (30,2 %), так и при среднетяжелом и тяжелом (28,9 %) течении COVID-19 оказались значительно ниже таковых с низкоавидными АТ (58,7 %, $p = 0,002$ и 48,9 %, $p = 0,006$ соответственно).

У реципиентов печени, которые в подавляющем большинстве случаев перенесли COVID-19 в легкой форме, эти показатели были практически соизмеримыми – доля пациентов с низкоавидными АТ составила 45,5 %, с высокоавидными – 50,0 %.

Анализ данных по регистрации АТ разной avidности в зависимости от возраста пациентов (таблица 3) показал, что у реципиентов почки в возрастной категории до 50 лет преимущественно выявлялись противовирусные АТ низкой avidности (64,3 %), в то время как высокой avidности – лишь у 21,4 % лиц ($p < 0,001$). У пациентов старше 50 лет частота регистрации низко- и высокоавидных АТ была соизмеримой.

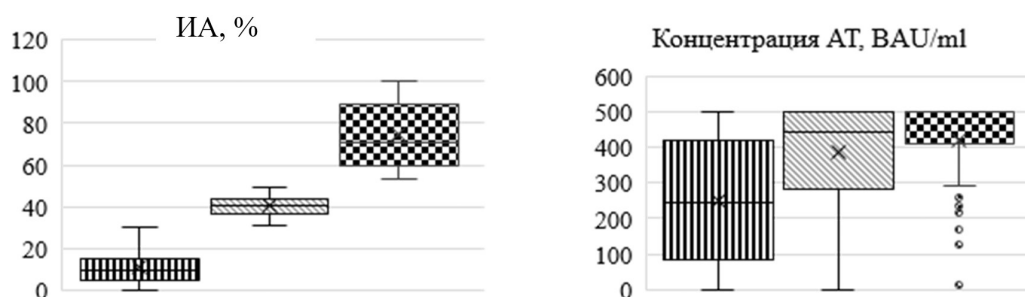
Таблица 3 – Частота выявления высоко-, средне- и низкоавидных IgG к S белку (включая RBD) SARS-CoV-2 у реципиентов почки и печени разных возрастных групп

Возрастная группа	Доля пациентов с АТ низкой avidности, %	Доля пациентов с АТ средней avidности, %	Доля пациентов с АТ высокой avidности, %
Реципиенты почки			
18–34 года (n = 25)	64,0 [44,4; 79,8]	8,0 [1,1; 26,1]	28,0 [14,1; 47,8]
35–49 лет (n = 59)	64,4 [51,6; 75,4]	17,0 [9,3; 28,7]	18,6 [10,6; 30,6]
50–64 года (n = 57)	40,4 [28,6; 53,3]	19,3 [11,0; 31,5]	40,4 [28,6; 53,3]
старше 64 лет (n = 12)	33,3 [13,6; 61,2]	33,3 [13,6; 61,2]	33,3 [13,6; 61,2]

Возрастная группа	Доля пациентов с АТ низкой авидности, %	Доля пациентов с АТ средней авидности, %	Доля пациентов с АТ высокой авидности, %
Реципиенты печени			
18–34 года (n = 1)	–	–	100
35–49 лет (n = 5)	40,0 [11,6; 77,1]	20,0 [2,0; 64,0]	40,0 [11,6; 77,1]
50–64 года (n = 17)	47,1 [26,2; 69,0]	–	53,9 [31,0; 73,8]
старше 64 лет (n = 4)	50,0 [15,0; 85,0]	–	50,0 [15,0; 85,0]

В группе реципиентов печени достоверно значимых различий в выявлении высоко- и низкоавидных АТ в зависимости от возраста не наблюдалось.

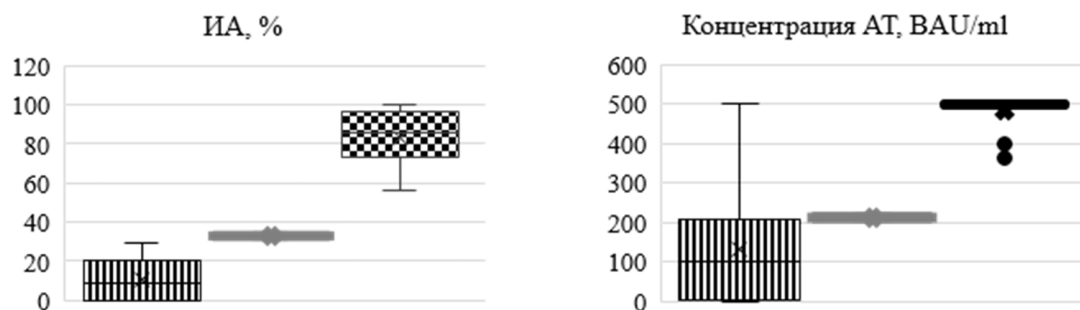
При оценке соотношения ИА постинфекционных противовирусных IgG к S белку (включая RBD) SARS-CoV-2 с их концентрациями, определяемыми в BAU/ml, было установлено (рисунок 1), что у реципиентов почки на фоне высоких показателей ИА – более 50 % (среднее значение 74,9 %, медиана 71 %) – регистрировались и самые высокие концентрации противовирусных АТ (среднее 421 BAU/ml, медиана 501 BAU/ml). При регистрации ИА в пределах от 30 % до 50 % (среднее 40,2 %, медиана 40,5 %) отмечался более широкий разброс концентраций АТ (среднее 386 BAU/ml, медиана 442 BAU/ml). При низких показателях ИА – менее 30 % (среднее 10,6 %, медиана 9 %) – диапазон концентраций был максимально широким со средним значением 248 BAU/ml (медиана 245 AU/ml).



▨ – ИА ≤ 30 % (низкий), ▨ – ИА от 30 до 50 % (средний), ▨ – ИА ≥ 50% (высокий)

Рисунок 1 – Регистрируемые показатели ИА и диапазоны соответствующих им значений концентраций противовирусных АТ в группе реципиентов почки

В группе реципиентов печени (рисунок 2) были получены следующие результаты: при ИА ≥ 50 % (среднее 83,4 %, медиана 85,5 %) среднее значение концентрации АТ регистрировалось на уровне 483,9 BAU/ml (медиана 501 BAU/ml); ИА от 30 % до 50 % (медиана 33,0 %) соответствовали более низкие концентрации АТ (медиана 211 BAU/ml); при ИА ≤ 30 % (среднее 10,9 %, медиана 9,0 %) концентрации АТ были значительно ниже (среднее 130 BAU/ml, медиана 102,5 BAU/ml).



▨ – ИА ≤ 30 % (низкий), ▨ – ИА от 30 до 50 % (средний), ▨ – ИА ≥ 50% (высокий)

Рисунок 2 – Регистрируемые показатели ИА и диапазоны соответствующих им значений концентраций противовирусных АТ в группе реципиентов печени

Анализ полученных данных показал, что как у реципиентов почки, так и у реципиентов печени образование высокоавидных АТ соотносилось с максимально высокими их концентрациями (в обеих группах медианные концентрации IgG к S белку (включая RBD) составили 501 BAU/ml). В то же время у реципиентов почки, в отличие от реципиентов печени, при средних (40,5 % и 33,0 % соответственно) и низких (9,0 % и 9,0 % соответственно) медианных ИА медианные концентрации противовирусных антител были в 2 и более раз выше (442 BAU/ml против 211 BAU/ml и 245 BAU/ml и 102,5 BAU/ml соответственно), что косвенно свидетельствует о более частом формировании низкоавидных постинфекционных противовирусных АТ у лиц после трансплантации почки.

Параметры авидности поствакцинальных противовирусных АТ у реципиентов почки и печени. В исследовании на авидность поствакцинальных анти-SARS-CoV-2 АТ были задействованы реципиенты, сыворотки крови которых заведомо содержали противовирусные IgG к S белку (включая RBD) после двухэтапной иммунизации вакцинами Спутник V или Vero Cell. Демографические характеристики данных групп реципиентов представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Демографические характеристики групп вакцинированных реципиентов, участвовавших в серологическом тестировании

Параметр оценки	Доля реципиентов			
	Почки (n = 49)		Печени (n = 17)	
	Привитые Спутник V (n = 28), %	Привитые Vero Cell (n = 21), %	Привитые Спутник V (n = 15), %	Привитые Vero Cell (n = 2), %
Возраст				
18–34 года	14,3	–	–	–
35–49 лет	42,9	57,1	13,3	–
50–64 года	25,0	28,6	46,7	50,0
более 64 лет	17,9	14,3	40,0	50,0
Пол				
женщины	35,7	57,1	40,0	–
мужчины	64,3	42,9	60,0	100

Средний показатель ИА поствакцинальных АТ в группе реципиентов почки составил 63,8 % (медиана 77 %). При этом у привитых вакциной Спутник V по сравнению с вакцинированными Vero Cell этот показатель оказался несколько выше – 70,0 % (медиана 82,0 %) против 55,0 % (медиана 62,0 %). В группе реципиентов печени были получены сопоставимые результаты: средний показатель ИА составил 67 % (медиана 77 %), у привитых Спутник V – 72 % (медиана 77 %), Vero Cell – 27 % (медиана 27 %).

В целом (таблица 5) у подавляющего большинства реципиентов, привитых Спутник V, регистрировались АТ высокой авидности (у 78,6 % реципиентов почки и у 80,0 % реципиентов печени). После вакцинации Vero Cell доля реципиентов почки с высокоавидными АТ была ниже и составила 57,1 %.

Таблица 5 – Частота выявления высоко-, средне- и низкоавидных IgG к S белку (включая RBD) SARS-CoV-2 у привитых реципиентов почки и печени в зависимости от анамнеза на момент вакцинации

Показатели ИА противовирусных IgG к S белку (включая RBD) SARS-CoV-2	Частота выявления низко-, средне- и высокоавидных АТ, %					
	в целом в группе привитых		болели и привились		не болели и привились	
	Спутник V	Vero Cell	Спутник V	Vero Cell	Спутник V	Vero Cell
Реципиенты почки	n = 28	n = 21	n = 19	n = 13	n = 9	n = 8
АТ низкой авидности ИА ≤ 30 %	14,3 [5,1; 32,1]	23,8 [10,2; 45,5]	10,5 [1,7; 32,6]	15,4 [3,1; 43,5]	22,2 [5,3; 55,7]	37,5 [13,5; 69,6]
АТ средней авидности 30 % < ИА < 50 %	7,1 [0,9; 23,7]	19,0 [7,1; 40,6]	10,5 [1,7; 32,6]	7,7 [0; 35,4]	–	37,5 [13,5; 69,6]
АТ высокой авидности ИА ≥ 50 %	78,6 [60,1; 90,1]	57,1 [36,5; 75,6]	78,9 [56,1; 92,1]	76,9 [49,1; 92,5]	77,8 [44,3; 94,7]	25,0 [6,3; 59,9]
Реципиенты печени	n = 15	n = 2	n = 9	n = 0	n = 6	n = 2
АТ низкой авидности ИА ≤ 30 %	6,7 [0; 31,8]	50,0 [9,5; 90,6]	–	–	16,7 [1,1; 58,2]	50,0 [9,5; 90,6]

Показатели ИА противовирусных IgG к S белку (включая RBD) SARS-CoV-2	Частота выявления низко-, средне- и высокоавидных АТ, %					
	в целом в группе привитых		болели и привились		не болели и привились	
	Спутник V	Vero Cell	Спутник V	Vero Cell	Спутник V	Vero Cell
АТ средней авидности 30 % < ИА < 50 %	13,3 [2,5; 39,1]	50,0 [9,5; 90,6]	11,1 [0; 45,7]	–	–	50,0 [9,5; 90,6]
АТ высокой авидности ИА ≥ 50 %	80,0 [54,5; 93,7]	–	88,9 [54,3; 100]	–	83,3 [41,8; 98,9]	–

Анализ данных в зависимости от иммунного анамнеза пациентов на момент вакцинации показал, что в группе реципиентов почки, привитых Спутник V, наблюдались достоверные различия в частоте регистрации высокоавидных АТ по сравнению с низкоавидными независимо от наличия (78,9 % против 10,5 % соответственно) или отсутствия (77,8 % против 22,2 % соответственно) контакта с возбудителем до вакцинации – $p < 0,001$. У вакцинированных Vero Cell были получены несколько иные результаты: показатели частоты выявления АТ высокой (76,9 %) и низкой (15,4 %) авидности имели статистически достоверную разницу ($p < 0,001$) лишь у переболевших перед вакцинацией лиц.

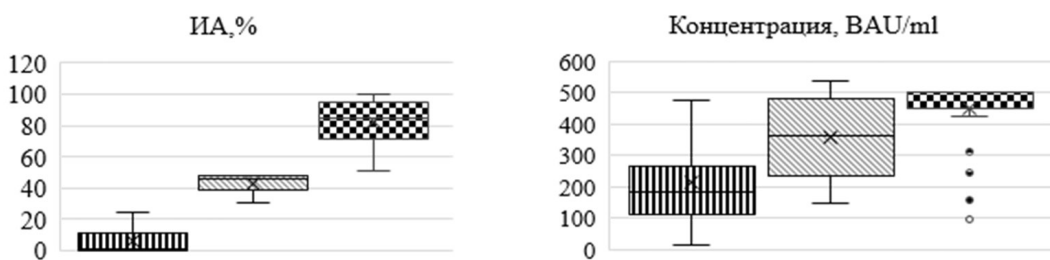
В группе реципиентов печени выраженное преобладание АТ высокой авидности отмечалось у привитых Спутником V вне зависимости от их иммунного статуса перед вакцинацией (у 83,3 % пациентов, не перенесших COVID-19, и у 88,9 % лиц, перенесших COVID-19 перед вакцинацией – $p < 0,001$).

Анализ данных по регистрации АТ различной авидности в зависимости от возраста привитых реципиентов почки (таблица 6) продемонстрировал наличие статистически достоверных различий ($p < 0,001$) в частоте регистрации АТ высокой и низкой авидности в возрастных категориях 35–49 лет (70,8 % и 16,7 % соответственно) и 50–64 года (76,9 % и 15,4 % соответственно). Среди реципиентов печени аналогичных зависимостей выявлено не было.

Таблица 6 – Частота выявления высоко-, средне- и низкоавидных IgG к S белку (включая RBD) SARS-CoV-2 у привитых реципиентов почки и печени разных возрастных групп

Возрастная группа	Доля пациентов с АТ низкой авидности, %	Доля пациентов с АТ средней авидности, %	Доля пациентов с АТ высокой авидности, %
Реципиенты почки			
18–34 года (n = 4)	–	25,0 [3,4; 71,1]	75,0 [28,9; 96,6]
35–49 лет (n = 24)	16,7 [6,1; 36,5]	12,5 [3,5; 31,8]	70,8 [50,6; 85,3]
50–64 года (n = 13)	15,4 [3,1; 43,5]	7,7 [0; 35,4]	76,9 [49,1; 92,5]
старше 64 лет (n = 8)	25,0 [6,3; 59,9]	12,5 [0,1; 49,2]	62,5 [30,4; 86,5]
Реципиенты печени			
35–49 лет (n = 3)	–	–	100
50–64 года (n = 8)	25,0 [6,3; 59,9]	12,5 [0,1; 49,2]	62,5 [30,4; 86,5]
старше 64 лет (n = 6)	–	28,6 [7,6; 64,8]	71,4 [32,2; 92,4]

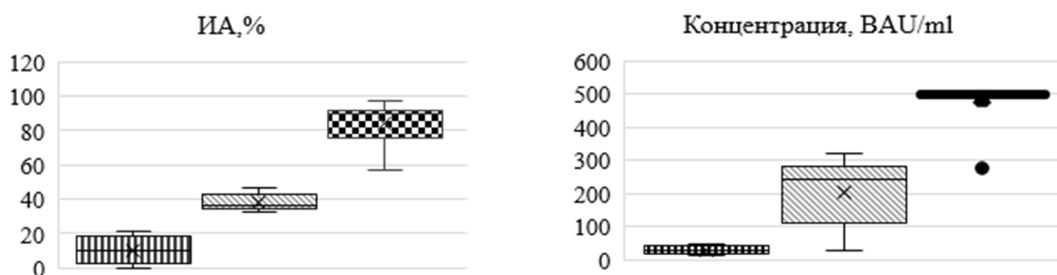
Сопоставление значений ИА и концентраций поствакцинальных противовирусных IgG к S белку (включая RBD) SARS-CoV-2 показало (рисунок 3), что у реципиентов почки на фоне ИА ≥ 50 % (среднее значение 82,2 %, медиана 85 %) регистрировались и самые высокие концентрации противовирусных АТ (среднее 446,6 BAU/ml, медиана 501 BAU/ml). При регистрации ИА в пределах от 30 до 50 % (среднее 42,8 %, медиана 46,0 %) отмечались более низкие концентрации АТ (среднее 358,5 BAU/ml, медиана 363 BAU/ml). При ИА ≤ 30 % (среднее 6,2 %, медиана 1 %) регистрировались самые низкие концентрации АТ (среднее 216,6 BAU/ml, медиана 185,0 BAU/ml).



▣ – ИА ≤ 30 % (низкий), ▤ – ИА от 30 до 50 % (средний), ▥ – ИА ≥ 50% (высокий)

Рисунок 3 – Регистрируемые показатели ИА и диапазоны соответствующих им значений концентраций противовирусных АТ в группе вакцинированных реципиентов почки

В группе реципиентов печени (рисунок 4) были получены следующие результаты: высоким показателям ИА (среднее 83,0 %, медиана 90 %) соответствовали максимальные концентрации АТ (среднее 482,3 ВАУ/мл, медиана 501 ВАУ/мл); при средних показателях ИА (среднее 39,0 %, медиана 36 %) отмечалось снижение концентраций (среднее 196,7 ВАУ/мл, медиана 243 ВАУ/мл); низким значениям ИА (среднее 11,0 %, медиана 11,0 %) соответствовали минимальные концентрации АТ (среднее 29,5 ВАУ/мл, медиана 29,5 ВАУ/мл).



▣ – ИА ≤ 30 % (низкий), ▤ – ИА от 30 до 50 % (средний), ▥ – ИА ≥ 50% (высокий)

Рисунок 4 – Регистрируемые показатели ИА и диапазоны соответствующих им значений концентраций противовирусных АТ в группе вакцинированных реципиентов печени

Из представленных данных видно, что у вакцинированных реципиентов почки разброс показателей концентраций противовирусных АТ как при низких, так и при средних и высоких значениях ИА был значительно шире, чем у реципиентов печени. При этом медианные значения концентраций противовирусных АТ при высоких и средних показателях ИА в обеих группах были сопоставимыми (у реципиентов почки медианным ИА 85 % и 46,5 % соответствовали медианные концентрации 501 ВАУ/мл и 363,5 ВАУ/мл, у реципиентов печени медианным ИА 90 % и 36 % соответствовали медианные концентрации 501 ВАУ/мл и 243 ВАУ/мл). В то же время у реципиентов почки, в отличие от реципиентов печени, при низких медианных ИА (1 % и 11 % соответственно) медианные концентрации противовирусных антител были на порядок выше – 216,6 ВАУ/мл против 29,5 ВАУ/мл, что косвенно свидетельствовало о более частом формировании низкоавидных поствакцинальных противовирусных АТ у лиц с почечным трансплантатом.

Литературные данные и данные наших собственных исследований, свидетельствующих о разном иммунном ответе вакцинированных лиц [7, 8], показали, что процесс формирования авидности имеет индивидуальный характер. Что касается реципиентов почки и печени, то в наших исследованиях введение бустерной дозы вирусного антигена однозначно приводило к росту ИА. Так, при сравнительном исследовании авидности образующихся антител в результате ревакцинации или совокупного иммунного ответа на вакцину и возбудитель в группе заболевших вакцинированных (первичная иммунизация – Спутник V или Vero Cell, вторичная – инфекционный агент) регистрируемый ИА был охарактеризован как высокий в обоих случаях (рисунок 5). Лишь у одного реципиента почки после ревакцинации препаратом Vero Cell, который использовался и для первичной иммунизации, ИА регистрировался на нижней границе АТ высокой авидности (53 %).

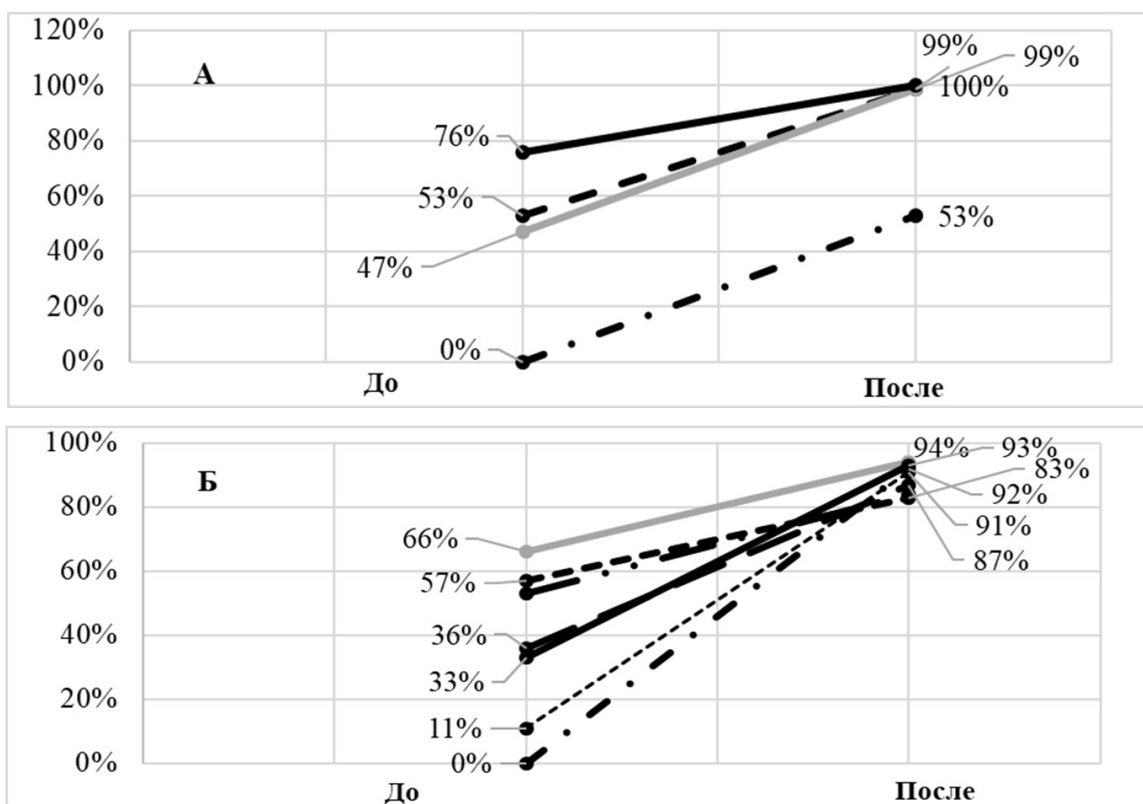


Рисунок 5 – Индивидуальный характер процесса созревания avidности анти-SARS-CoV-2 IgG у привитых ревакцинированных (А) и у заболевших привитых реципиентов (Б)

Заключение. Изучение характеристик протективности иммунитета против COVID-19 на основе исследования параметров avidности анти-SARS-CoV-2 IgG показало, что у реципиентов печени они оказались выше по сравнению с таковыми у реципиентов почки. У реципиентов почечного трансплантата достоверно чаще регистрировались АТ низкой avidности за счет лиц моложе 50 лет ($p < 0,001$). Кроме того, выявление низко- и среднеavidных АТ в этой группе пациентов отмечалось на фоне концентраций противовирусных АТ, в 2 и более раз превышающих аналогичные показатели в группе реципиентов печени.

Для реципиентов почки и печени вакцинация была более предпочтительным способом приобретения иммунной защиты против SARS-CoV-2, чем после однократно перенесенного COVID-19. Она приводила к более высоким уровням медианных ИА как у реципиентов почки, так и у реципиентов печени.

У привитых реципиентов обеих групп более высокие показатели avidности противовирусных антител наблюдались после иммунизации Спутник V, чем после Vero Cell.

Статистически достоверные различия в частоте выявления IgG высокой avidности ($p < 0,001$) регистрировались у реципиентов почки и печени независимо от их иммунного статуса к SARS-CoV-2 на момент вакцинации Спутник V. У вакцинированных Vero Cell аналогичный результат наблюдался лишь у пациентов, перенесших инфекцию COVID-19 перед иммунизацией.

Отсутствие достоверно значимой зависимости показателей avidности постинфекционных и поствакцинальных противовирусных АТ от концентраций свидетельствовало об индивидуальном характере процесса формирования их avidности.

Исходя из полученных в настоящем исследовании данных, очевидно, что при оценке состояния гуморального иммунитета к возбудителю COVID-19 и принятия решения о вакцинации/ревакцинации против данной инфекции необходимо использовать не только результаты количественного анализа противовирусных IgG, но и показатели их avidности.

Сведения о НИР. НИР «Изучить характеристики устойчивости и протективности постинфекционного и поствакцинального иммунитета к коронавирусу SARS-CoV-2 у реципиентов почки и печени», регистрационный номер 20220308.

Літэратура

1. Rate of SARS-CoV-2 reinfection during an Omicron wave in Iceland / E. Eythorsson, H. L. Runolfsson, R. F. Ingvarsson [et al.] // *JAMA Network Open*. – 2022. – Vol. 5, № 8. – DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2022.25320.
2. High rate of reinfection with the SARS-CoV-2 Omicron variant / N. N. Nguyen, L. Houhamdi, V. T. Hoang [et al.] // *The Journal of Infection*. – 2022. – Vol. 85, № 2. – P. 174–211.
3. COVID – coronavirus statistics. – URL: <https://www.worldometers.info/coronavirus/> (date of access: 01.10.2022).
4. Immune boosting by B.1.1.529 (Omicron) depends on previous SARS-CoV-2 exposure / C. J. Reynolds, C. Pade, J. M. Gibbons [et al.] // *Science*. – 2022. – Vol. 377, № 6603. – DOI: 10.1126/science.abq1841.
5. Assessment of mutations on RBD in the Spike protein of SARS-CoV-2 Alpha, Delta and Omicron variants / C. H. S. da Costa, C. A. B. de Freitas, C. N. Alves, J. Lameira // *Scientific Reports*. – 2022. – Vol. 12, № 1. – DOI: 10.1038/s41598-022-12479-9.
6. Avidity of IgG to SARS-CoV-2 RBD as a prognostic factor for the severity of COVID-19 reinfection / V. Manuylov, O. Burgasova, O. Borisova [et al.] // *Viruses*. – 2022. – Vol. 14, № 3. – DOI: 10.3390/v14030617.
7. Характэрыстыкі і асабэннасці фарміравання гумаральнага імунітэта пасле імунізацыі вакцынамі «Спутнік V» і Vero Cell / Т. В. Амвросьева, И. В. Бельская, З. Ф. Богуш [и др.] // *Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук*. – 2021. – Т. 18, № 4. – С. 456–465.
8. Показателі гумаральнага імунітэта у пацыентаў с COVID-19 / Т. В. Амвросьева, Н. В. Поклонская, И. В. Бельская [и др.] // *Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя медыцынскіх навук*. – 2020. – Т. 17, № 4. – С. 437–443.

*Amvrosieva T. V., Bohush Z. F., Belskaya I. V., Paklonskaya N. V., Kalachyk A. V. ¹,
Komisarau K. S. ¹, Chabatarova T. K. ¹, Shcherba A. E. ¹, Fralova M. A. ¹*

AVIDITY OF POST-INFECTION AND POST-VACCINATION IgG IN KIDNEY AND LIVER RECIPIENTS

*State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus
¹Minsk Research and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology, Minsk, Belarus*

The work is dedicated to studying of the post-infection and post-vaccination anti-SARS-CoV-2 IgG avidity in kidney and liver recipients. It was found that during the period of convalescence, the median values of the avidity index (hereinafter – AI) were 56.0 % in liver recipients versus 28.0 % in kidney recipients. In this cohort of patients vaccination led to higher levels of median AI in both kidney recipients (77.0 % versus 28.0 %) and liver recipients (77.0 % versus 56.0 %). In vaccinated recipients of both groups, higher levels of avidity of antiviral antibodies were observed after them being vaccinated with Sputnik V than with Vero Cell (median AI in kidney recipients – 82.0 % and 62.0 % respectively; in liver recipients – 77.0 % and 27.0 % respectively). After vaccination with Sputnik V, significant differences in the frequency of registration of anti-SARS-CoV-2 IgG high and low avidity ($p < 0.001$) were noted regardless of the immune status of recipients before immunization, while when using Vero Cell, a significant difference between these indicators was observed only in patients with hybrid immunity (those who had COVID-19 before vaccination).

Keywords: COVID-19, immunity, antiviral IgG, avidity, kidney and liver recipients.

References

1. Eythorsson E., Runolfsson H. L., Ingvarsson R. F. et al. Rate of SARS-CoV-2 reinfection during an Omicron wave in Iceland. *JAMA Netw Open*. 2022; 5(8). DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2022.25320.
2. Nguyen N. N., Houhamdi L., Hoang V. T. et al. High rate of reinfection with the SARS-CoV-2 Omicron variant. *J Infect*. 2022; 85(2): 174–211.
3. COVID – Coronavirus statistics. Available at: <https://www.worldometers.info/coronavirus/> (accessed 01 October 2022).
4. Reynolds C. J., Pade C., Gibbons J. M. et al. Immune boosting by B.1.1.529 (Omicron) depends on previous SARS-CoV-2 exposure. *Science*. 2022; 377(6603). DOI: 10.1126/science.abq1841.
5. da Costa C. H. S., de Freitas C. A. B., Alves C. N., Lameira J. Assessment of mutations on RBD in the Spike protein of SARS-CoV-2 Alpha, Delta and Omicron variants. *Sci Rep*. 2022; 12(1). DOI: 10.1038/s41598-022-12479-9.
6. Manuylov V., Burgasova O., Borisova O. et al. Avidity of IgG to SARS-CoV-2 RBD as a prognostic factor for the severity of COVID-19 reinfection. *Viruses*. 2022; 14(3). DOI: 10.3390/v14030617.

7. Amvrosieva T. V., Belskaya I. V., Bohush Z. F. et al. Characteristics and features of the formation of humoral immunity after immunization with Sputnik V and Vero Cell vaccines. *Proc Natl Acad Sci Belarus Med Ser.* 2021; 18(4): 456–65. (in Russian)

8. Amvrosieva T. V., Paklonskaya N. V., Belskaya I. V. et al. Indicators of humoral immunity in patients with COVID-19. *Proc Natl Acad Sci Belarus Med Ser.* 2020; 17(4): 437–43. (in Russian)

e-mail для переписки: labsanvir@gmail.com

Поступила 07.10.2024

УДК 578.827.2:578.2

Аринович А. С.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ, ПАТОГЕНЕЗ И КЛИНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОЛИОМАВИРУСОВ ЧЕЛОВЕКА (BKV И JCV)

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии
и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. BKV и JCV полиомавирусы – представители семейства *Polyomaviridae* – широко распространены в человеческой популяции. Хотя данные вирусы не вызывают значительных клинически выраженных симптомов у иммунокомпетентных лиц, они активируются в случаях иммунодефицита – как фармакологического, так и патологического, вызывая тяжелые осложнения, вплоть до летальных.

В статье представлен литературный обзор, описывающий биологическую структуру BKV и JCV, организацию их генома, классификацию серотипов, подтипов и генотипов, эпидемиологию и патогенез вызываемых ими инфекций, представительство в объектах окружающей среды. Рассмотрены также клинические проявления полиомавирусной инфекции и известные методы ее лабораторной диагностики.

Ключевые слова: полиомавирусы, BKV, JCV, полиомавирусная инфекция.

Введение. Вирусы семейства *Polyomaviridae* поражают различные виды млекопитающих (приматов и грызунов) и птиц.

Первый, выделенный в 1953 г. Людвигом Гроссом, полиомавирус (далее – ПВ) – мышинный MPyV – вызывает аденокарциному околоушной железы новорожденных мышей. Именно из-за этой способности индуцировать развитие опухоли патоген получил название «полиомавирус», от греческих слов «поли» («много») и «ома» («опухоль») [1]. Исследования подтвердили, что вирус был широко распространен среди грызунов, но симптомы развивались только у новорожденных мышей или мышей с ослабленным иммунитетом [2].

По классификации 2021 г. (ICTV) семейство *Polyomaviridae* включает 8 родов и 117 видов (род *Alphapolyomavirus* – 51 вид, *Betapolyomavirus* – 41 вид, *Deltapolyomavirus* – 7 видов, *Epsilonpolyomavirus* – 3 вида, *Etapolyomavirus* – 1 вид, *Gammapolyomavirus* – 9 видов, *Thetapolyomavirus* – 4 вида, *Zetapolyomavirus* – 1 вид). На данный момент насчитывается 13 полиомавирусов человека. *Human polyomavirus* 12 в 2018 г. был переименован и отнесен к полиомавирусам землероек (актуальное видовое название – *Alphapolyomavirus saraneus*) [3].

Полиомавирусы BKV и JCV были изолированы в 1971 г. от пациентов с инициалами В. К. и J. С. соответственно [4, 5]. Их актуальное официальное название – *Betapolyomavirus hominis* (далее – BKV; BKPyV, BK polyomavirus, *Human polyomavirus* 1) и *Betapolyomavirus secuhominis* (далее – JCV; JCPyV, JC polyomavirus, *Human polyomavirus* 2). BKV и JCV были обнаружены первыми из полиомавирусов человека. BKV обнаружен в моче пациента с недостаточностью трансплантированной почки, вызванной стриктурой мочеточника. JCV выделен посмертно из ткани головного мозга пациента с прогрессирующей мультифокальной лейкоэнцефалопатией. По данным сероэпидемиологических исследований, частота серопозитивных к BKV лиц достигает 80 % и более, к JCV – от 40 % до 63,2 %, что свидетельствует об их широкой распространенности среди населения [6–8].

Цель работы – обобщить имеющуюся опубликованную информацию о полиомавирусах человека, в частности BKV и JCV, определить малоизученные аспекты проблемы.

Материалы и методы. Поиск литературы для написания данной статьи проводился по ключевым словам «polyomavirus», «polyomavirus infection», «полиомавирусы», «BKV», «JCV», «полиомавирусная инфекция» в наукометрических базах PubMed, Medline, Web of Science. Для анализа были отобраны 55 релевантных источников.

Результаты и их обсуждение.

Структура полиомавирусной частицы и организация генома

Полиомавирусы представляют собой мелкие безоболочечные вирусы с вирионом 40–45 нм в диаметре (рисунок 1). Капсид состоит из 72 пентамерных капсомеров ($T = 7$). Каждый пентамер состоит из пяти копий основного капсидного белка VP1. Капсомеры связаны С-концевым плечом VP1, в то время как N-концевая часть VP1 связана с вирусным геномом. Зрелые частицы большинства полиомавирусов содержат второстепенные капсидные белки VP2 и VP3. Одиночная копия VP2 или VP3 прикрепляется шпилькой к полости на внутренней поверхности каждого пентамера [9, 10].

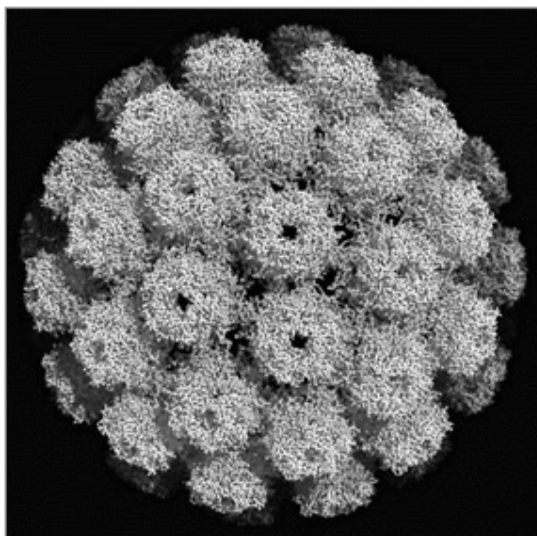


Рисунок 1 – Трехмерная структура вирусной частицы SV40, полученная с помощью рентгеновской дифракции [11]

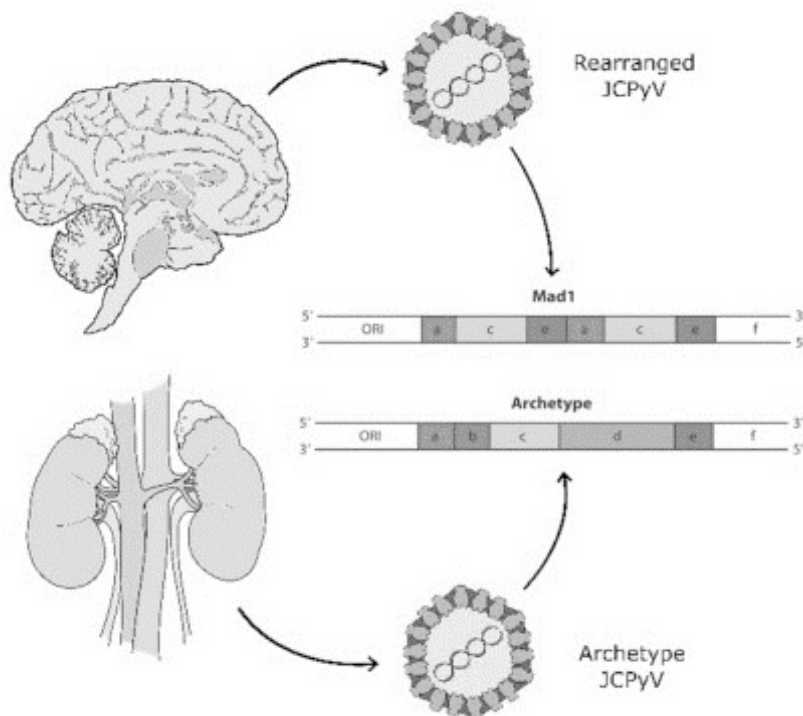
Геном ВКВ и JCV представлен двухцепочечной ковалентно замкнутой кольцевой молекулой ДНК длиной ~ 5000–5200 пар нуклеотидов (далее – п. н.), которые можно разделить на три части: ранняя и поздняя транскрипционные (кодирующие) области вирусного генома, а также находящаяся между ними гипервариабельная некодирующая контрольная (или регуляторная) область (далее – NCCR). Геном содержит 6 открытых рамок считывания (далее – ORF), транскрипция осуществляется с обеих цепей ДНК в 2 противоположных направлениях.

NCCR длиной ~ 400 п. н. содержит цис-действующие элементы, т. е. регуляторные последовательности в промоторах и энхансерах, точки начала репликации ДНК (далее – ORI) и сайты связывания Т-антигена и клеточных факторов транскрипции. Факторы транскрипции регулируют экспрессию генов как в ранней, так и в поздней области [12].

NCCR ВКВ разделена на пять блоков: блок О, который содержит точку ORI, и четыре блока последовательностей, связывающих факторы транскрипции – P, Q, R и S [13]. Точечные мутации, делеции, дубликации и перестройки в NCCR приводят к тому, что разные штаммы ВКВ значительно гетерогенны в этой области генома и эта вариация, скорее всего, играет ключевую роль в скорости репликации вируса. Блоки P, Q, R и S составляют область контроля транскрипции, которая содержит ряд сайтов связывания клеточных факторов транскрипции. Этот сегмент генома особенно подвержен мутациям. Было высказано предположение, что перестройки в NCCR могут изменять сайты связывания факторов транскрипции и таким образом модулировать скорость репликации [14]. Усиленная репликация вируса также может быть вызвана делециями предполагаемых ингибирующих последовательностей в блоках Q и R. Однако существует вероятность того, что повышенная скорость репликации вируса у лиц с подавленным иммунитетом приводит к большему молекулярному разнообразию ВКВ. Результаты, полученные Liimatainen et al. в 2020 г., показывают, что иммуносупрессия может ускорять репликацию вируса, что в свою очередь может привести к мутациям в области контроля транскрипции и появлению

новых вариантов вируса, демонстрирующих повышенную эффективность репликации [15]. Считается, что перестройки в NCCR позволяют вирусу адаптироваться к изменениям, происходящим в среде клетки-хозяина, путем увеличения или уменьшения количества, или аффинности сайтов связывания факторов транскрипции [12]. Однако перестройки в случае ВКВ могут быть спорадическими, а не специфическими, следовательно, повышенная скорость репликации, вероятно, связана с увеличением частоты клинических проявлений заболевания.

Большинство выделенных из мочи последовательностей NCCR JCV, названных «архетипом» (at-NCCR), состоят из начальной регуляторной области, содержащей ORI, за которой следуют 6 отдельных последовательных секций, названных буквами от a до f. NCCR JCV были разделены на четыре группы [16]: I-S, I-R (как штаммы Mad-1 и Mad-4), II-S и II-R (как штаммы Mad-7 и Mad-8). NCCR типа I не содержат вставки, тогда как NCCR типа II содержат вставку по крайней мере части последовательности из одного из участков b или d. Подтипы «S» (англ. singular) не содержат повторов, тогда как подтипы «R» (англ. repeat) имеют тандемные повторы. NCCR типа II-S также называют архетипом или архетипоподобной, если в ней происходят делеции. NCCR типа II-R обычно называют реарранжированной NCCR. Патогенная форма JCV, называемая PML-типом, возникает в результате обширной геномной перестройки в NCCR посредством дупликаций или делеций – особенно делеций в блоке «d» NCCR [17] (рисунок 2). Эти перестройки приводят к появлению вируса, способного к усиленной репликации в глиальных клетках, и являются единственными вирусами, обнаруживаемыми в паренхиме головного мозга и спинномозговой жидкости пациентов с активным заболеванием [16, 18–20]. Скрининг JCV, выделенных из нервной ткани 29 человек с прогрессирующей мультифокальной лейкоэнцефалопатией (далее – ПМЛ), показал, что образцы были в высшей степени уникальны в пределах NCCR, что указывает на то, что вирусная перестройка произошла после первичной инфекции, а не до нее [21]. Считается, что эти геномные перестройки вызваны глубокой иммуносупрессией (например, СПИД) или отсутствием нормального иммунного надзора за тканями ЦНС (например, аутоиммунные заболевания, лечимые иммуномодулирующими препаратами).



Архетипный JCV персистирует в ткани почек, как правило, бессимптомно. JCV ПМЛ-типа представляет собой перестроенную форму с одной или несколькими делециями или дупликациями последовательности геномных блоков в NCCR (показана выше в развернутом виде как делеция блоков b и d и дублирование блоков a, c и e) и обнаруживается в головном мозге, ликворе и крови [22].

Рисунок 2 – NCCR область JCV, претерпевающая перестройку при ПМЛ

Ранняя транскрипционная область размером ~ 2,4 Кб кодирует большой (далее – LTA) и малый (далее – STA) Т-антигены (Т от англ. tumour – опухоль). Кодирующие эти антигены мРНК образуются из общей пре-мРНК в результате альтернативного сплайсинга. Оба белка контролируют репликацию вирусной ДНК и трансформацию клеток хозяина. LTA также отвечает за переключение с транскрипции ранней области на репликацию вирусного генома и на транскрипцию поздней области. STA контролирует переход от ранней транскрипции к поздней [10]. Репликация вируса успешно протекает при полном отсутствии этого белка. Уникальная функция STA – взаимодействие с PP2A (клеточная фосфатаза). Связывание с STA ингибирует ферментативную деятельность PP2A и гиперактивирует различные сигнальные пути трансдукции, усиливая таким образом опухолеродные эффекты LTA. В 1995 г. также были открыты несколько новых альтернативных вариантов сплайсинга LTA и STA, продукты которых были названы Т'-белками (Т'165, Т'136, Т'135, Т'147 и Т'152). Значительное количество аминокислотных последовательностей всех Т'-белков совпадает с последовательностями LTA. Функция Т'-белков (Т'135, Т'136 и Т'165) в жизненном цикле вируса детально не изучена. Однако недавние данные свидетельствуют о том, что они могут играть роль в трансформации клеток посредством взаимодействия с белками-супрессорами опухолей p107 и p130 [23].

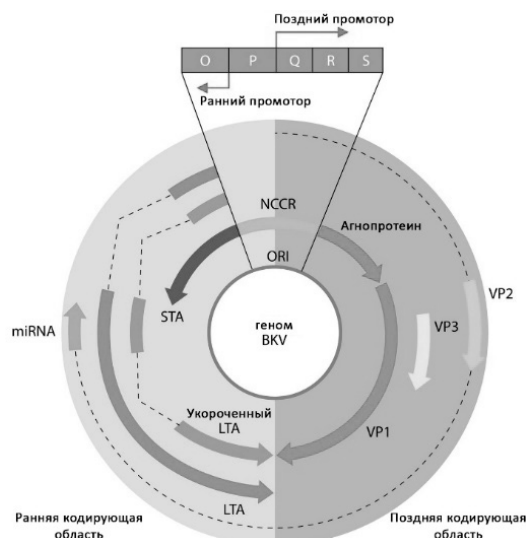
Поздние гены транскрибируются с цепи ДНК, комплементарной цепи для транскрипции ранних генов. Поздняя транскрипционная область протяженностью около 2,3 Кб кодирует капсидные белки VP1, VP2 и VP3, мРНК которых также образуются из первичного транскрипта в результате альтернативного сплайсинга. Основной капсидный белок VP1 можно разделить на пять внешних петель: BC, DE, EF, GH и HI, которые соединяют различные β-цепи полипептида. В неглубокой бороздке между петлями BC и HI находится сайт связывания рецептора, а петля BC содержит участок с нуклеотидами в положениях 1744–1812, используемый для идентификации четырех основных генотипов BKV на основе нуклеотидных полиморфизмов [24]. Кроме того, вирусы BKV, JCV и SV40 кодируют небольшой структурный белок агнопротеин. Он играет роль во многих клеточных процессах, включая ход клеточного цикла, регуляцию транскрипции вируса, сборку капсида, ингибирование репарации ДНК хозяина и высвобождение вириона из клетки [25]. В 2007 г. группа исследователей во главе с Daniels в результате своих экспериментов по заражению клеток почки зеленой обезьяны вирусом SV40 сообщили об обнаружении белка, который они назвали VP4 [26]. Он транслировался со стартового кодона, находящегося в мРНК VP2, его экспрессия была слабее, чем у VP2 и VP3. Данный пептид локализовался в ядре и не включался в вирусные частицы. Заражение клеток вирусом SV40 с недостаточной экспрессией VP4 задерживало высвобождение и количество вирусных частиц. Авторы предположили, что VP4 действует как виропорин, образуя гетероолигомеры с VP3, и, возможно, VP2, которые внедряются в мембрану клетки-хозяина и запускают ее лизис. Также было показано, что VP4 может разрушать ядерную мембрану. Предполагаемая ORF VP4 может присутствовать и в геномах BKV и JCV. Однако исследования 2016 г. поставили под сомнение существование данного пептида [27].

В поздней кодирующей области геномов SV40, МРyV и ПВ человека BKV, JCV, МСРyV закодирована также последовательность микро-РНК (миРНК), комплементарная мРНК LTA. Она подавляет репликацию вируса, препятствует иммунному ответу хозяина, снижая выработку цитокинов и восприимчивость инфицированных клеток к цитотоксическим Т-клеткам, и позволяет уклоняться от атаки естественных клеток-киллеров [10].

Схемы геномов BKV и JCV представлены на рисунках 3 и 4.

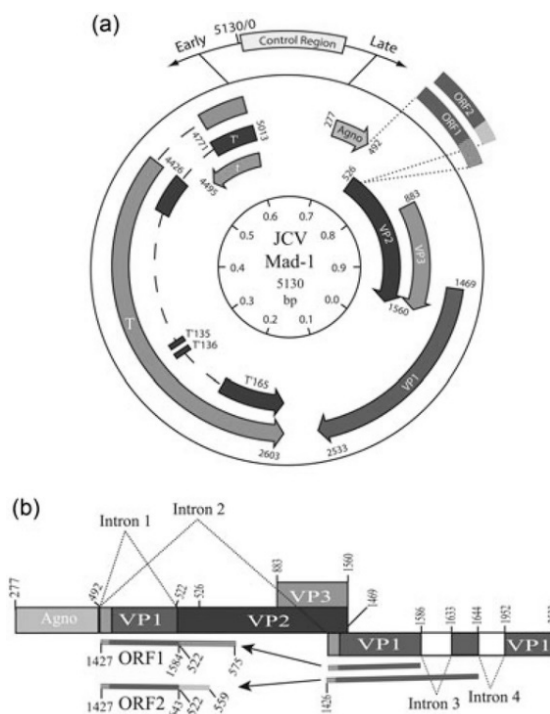
В работе Y. Jin et al. (2021) были описаны предположительные механизмы интеграции BKV в хромосомы клеток уротелия во время длительной активной инфекции, что становилось причиной неопластической трансформации и развития уротелиальной карциномы [33]. Такие случаи очень редки, но имеют место в клинической практике [33–35]. Это является одним из оснований для регулярного мониторинга вирусной нагрузки у реципиентов.

Гомология BKV и JCV на уровне как нуклеотидной, так и аминокислотной последовательности колеблется в пределах 75 %, при этом гомология ранних генов несколько выше по сравнению с генами структурных белков [36]. Несмотря на это, каждый из полиомавирусов проявляет специфичность в отношении хозяев и гистотипа клеток.



Транскрипция как ранних, так и поздних кодирующих областей протекает двунаправленным образом от точки ORI в NCCR. Области транскрипционного сплайсинга представлены пунктирными линиями. Поздняя кодирующая область кодирует структурные белки (VP1, VP2 и VP3) и агнопротеин. С ранней транскрибируются гены структурных белков (LTA и STA).

Рисунок 3 – Структура генома BKV [30]



(a) Геном JCV состоит из трех функциональных областей:

- 1) Control region (NCCR), которая содержит точку начала репликации ДНК и промоторно-энхансерные элементы для ранних и поздних генов;
- 2) ранняя кодирующая область, в которой закодированы LTA, STA, T'белки (T'165, T'135 и T'136) благодаря цис-альтернативному сплайсингу ранней пре-мРНК;
- 3) поздняя кодирующая область, в которой находятся последовательности капсидных белков (VP1, VP2 и VP3) и регуляторного белка – агнопротеина.

Кроме того, поздняя область также кодирует два дополнительных белка ORF1 и ORF2 вследствие транс-сплайсинга поздней пре-мРНК. (b) Схематичная демонстрация механизма создания ORF1 и ORF2, открытых рамок считывания [31]. Кодирующие области ORF1 и ORF2 создаются путем вставки частичной кодирующей области VP1 между кодирующими областями агнопротеина и VP2.

Рисунок 4 – Карта кольцевого генома JCV [32]

Серотипы, подтипы и генотипы BKV и JCV

До 1993 г. штаммы BKV во всем мире классифицировали серологическим методом. В 1993 г. с помощью ПЦР амплифицировали и секвенировали область из 287 п. н. гена VP1, обозначенную как «типизирующая область из 287 п. н.», которая предоставила доказательства существования различных генотипов BKV [37]. В настоящее время считается, что BKV состоит из антигенно различных серотипов и нескольких подтипов (I–IV) [38]. Изоляты BKV от разных людей редко бывают идентичными, что предполагает адаптацию вирусных последовательностей BKV к уникальной иммунологической среде их хозяина. Подтип I является наиболее распространенным во всем мире, за ним по частоте встречаемости следует подтип IV. Подтип I можно разделить на подгруппы Ia, Ib и Ic. Подтип II встречается редко и его последовательностей, доступных для анализа, ограниченное количество. Кроме того, подтипы II, III и IV, наряду с подгруппами Ib-1 и Ib-2, функционируют как пять полностью различных серотипов [39]. В подтипе IV также было выделено 6 подгрупп: IVa-1, IVa-2, IVb-1, IVb-2, IVc-1 и IVc-2 (таблица 1). К сожалению, исследования по генотипированию BKV не проводились в большинстве стран, и неясно, являются ли опубликованные данные репрезентативными для подтипов BKV, циркулирующих в тех регионах. Таким образом, истинное географическое распространение этих подтипов до конца не изучено и требует дальнейшего изучения.

Таблица 1 – Классификация BKV и географическое распределение субгрупп [40]

Подтип	Подгруппа	Географическое превалирование
I	Ia	Африка (Западная Азия)
	Ib-1	Юго-Восток Азии (Южный Китай)
	Ib-2	Европа (Западная Азия)
	Ic	Северо-Восток Азии
IV	Iva-1	Юго-Восток Азии (Южный Китай)
	Iva-2	Юго-Восток Азии (Южный Китай)
	IVb-1	Япония
	IVb-2	Корея, Япония
	IVc-1	Китай (Монголия, Юго-Восток Азии)
	IVc-2	Европа (Монголия)

На территории Республики Беларусь циркулируют генотипы BKV, принадлежащих к подгруппам Ib-2 и IVc, IVb-1 [41, 42].

JCV имеет только один основной серотип, 13 его генотипов, варьирующихся на 1–3 %, были выявлены в определенных географических регионах [43]. Их выделяют на основании генетической вариабельности в последовательности белка VP1. Генотипы 1 и 4 JCV выявляются чаще в США и Европе, генотипы 2A, 2B, 2E, 5, 7A, 7B, 7C – в Азии, 2D – в Австралии, генотипы 3 и 6 – в Африке, генотип 8 – в Папуа Новой Гвинее, на Тихоокеанских островах. Генотип 5 является рекомбинантным между 2B и 6.

В одном из исследований полный анализ вирусного генома (65 нуклеотидных последовательностей ДНК) JCV выявил три суперкластера, которые были обозначены как типы А, В и С [43]:

тип А встречается в основном у европейских и средиземноморских серотипов;

тип В состоит из европейского подтипа В1-с, семи азиатских подтипов (В1-а, -b, -d, В2, МУ, СУ и SC) и африканского подтипа (Af2);

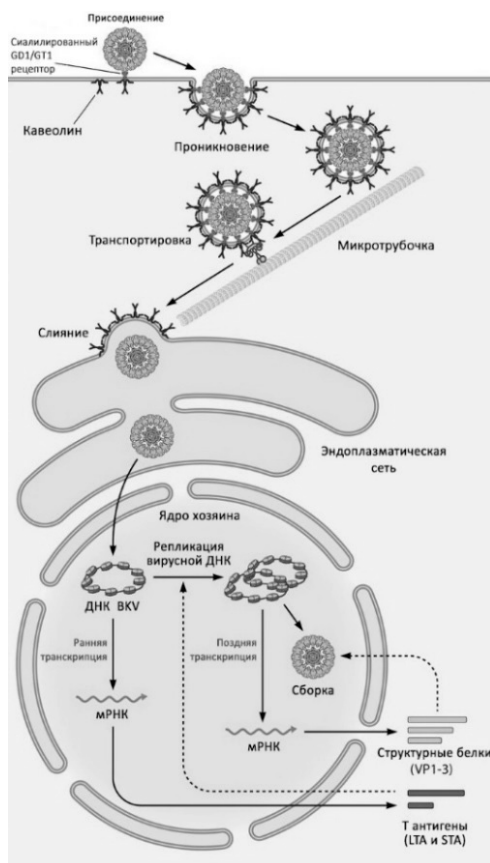
тип С происходит из Западной Африки (Af1).

Белорусские изоляты JCV в результате анализа фрагментов гена VP1 группировались в общий кластер с прототипными штаммами 1А, 1В, 2А, 2 и 4 генотипов [41, 42].

Патогенез и жизненный цикл

Первичное инфицирование JCV и BKV происходит через слизистые оболочки дыхательных путей, ротоглотки и/или желудочно-кишечного тракта. После кратковременной асимптоматической виремии возникает персистентная инфекция почечного эпителия в течение длительного времени, что подтверждается обнаружением ДНК BKV и/или JCV в ткани почки, полученной из биопсийного материала от 30–50 % пациентов, не имеющих поражения почек, при оперативных вмешательствах или вскрытии, а также в моче здоровых взрослых [7]. Также ПВ могут персистировать в В-лимфоцитах. У иммунокомпетентного человека репликация ПВ и следующая за этим виремия подавляется посредством вируснейтрализующих антител и элиминации пораженных клеток цитотоксическими Т-клетками. В условиях индуцированной или приобретенной иммуносупрессии возникает генерализованная и длительная виремия.

Скорость репликации ВКВ зависит от клетки-мишени и составляет 48–72 ч *in vitro* и *in vivo* [9]. Скорость репликации JCV *in vitro* в первичных глиальных клетках и астроцитах составляет 5–7 дней. Механизмы проникновения ВКВ и JCV в клетку представлены на рисунках 5 и 6.



Присоединение VP1 к ганглиозидным рецепторам GD1 и GT1 инициирует интернализацию ВКВ через кавеолы. Кавеолы, инкапсулирующие вирус, с помощью микротрубочек перемещаются в цитоплазму. Затем вирус сливается с эндоплазматическим ретикулумом, где слой VP1 распадается. Далее вирус проникает в ядро клетки и располагается эписомно.

Рисунок 5 – Кавеоло-опосредованное проникновение ВКВ в клетку-хозяина [30]

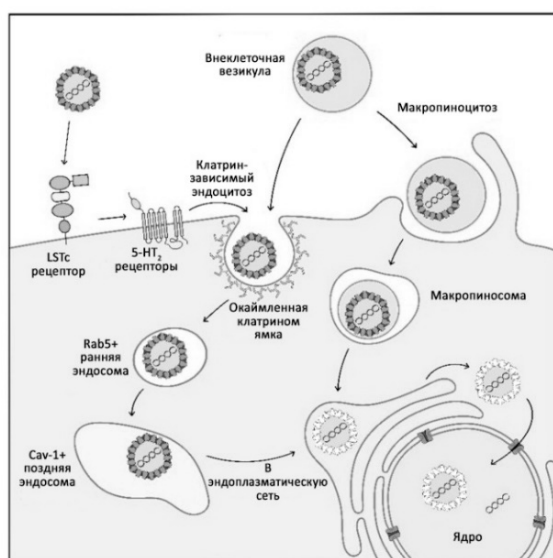
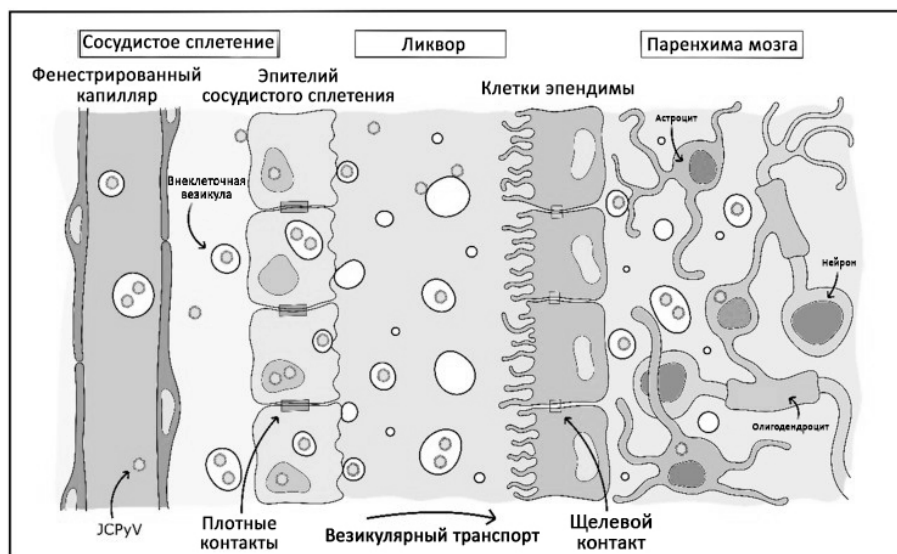


Рисунок 6 – Проникновение JCV в клетку [22]

Проникновение JCV в клетку может происходить несколькими путями. Первоначально JCV связывается со своими рецепторами LSTc перед временным взаимодействием с рецепторами 5-HT₂, которые облегчают интернализацию посредством клатрин-опосредованного эндоцитоза. Прежде чем попасть в эндоплазматическую сеть (далее – ЭС), где вирус сбрасывает оболочку, JCV переключается с ранней эндосомы Rab5+ на позднюю эндосому cav-1+. Затем JCV выходит из ЭС в цитозоль, откуда попадает в ядро для репликации. Альтернативным путем проникновения JCV может быть макропиноцитоз или клатрин-опосредованный эндоцитоз внеклеточной везикулы, содержащей JCV [20, 22]. Нокаутрующие мутации белков рецептора 5-HT_{2R} с помощью CRISPR-Cas9 ингибировали JCV-инфекцию. Эти данные будут использоваться для дальнейшего изучения возможности использования для лечения ПМЛ. JCV также известен своей нейротропностью (рисунок 7).



Данные свидетельствуют о том, что JCV, вероятно, проникает в ЦНС с использованием внеклеточных везикул. Теоретически JCV может проникать в строму из кровотока либо в виде свободных вирионов, либо в везикулах. Затем JCV заражает эпителиальные клетки сосудистого сплетения, в которых происходит упаковка вирионов и дальнейшее их высвобождение в везикулах в ликвор. Затем JCV-содержащие везикулы проникают в паренхиму головного мозга и заражают глиальные клетки без использования рецептора.

Рисунок 7 – Модель проникновения JCV в ЦНС через сосудистые сплетения [22]

Хотя взаимоотношения JCV и В-клеток до конца не ясны, механизм проникновения JCV через гематоэнцефалический барьер связывают с вирусным депо в В-лимфоцитах. В эксперименте Charagain M. L. и Negurkar V. R. (2010) показали, что в трансформированных вирусом Эпштейна – Барр В-клетках, зараженных JCV, вирусный геном уменьшился более чем в 1000 раз с 0 по 20 день после заражения, что согласуется с отсутствием вирусных ранних и поздних транскриптов и белков мессенджерной РНК [44]. Однако иммунофлуоресцентные изображения В-клеток, инфицированных JCV, конъюгированным с изотиоцианатом флуоресцеина, показали, что JCV проникает в В-клетки, а анализ защиты ДНК подтвердил наличие интактных вирионов JCV внутри В-клеток. Более того, инфицированные JCV В-клетки были способны передавать инфекцию наивным глиальным клеткам. Эти данные подтверждают, что JCV непродуктивно заражает В-клетки и, возможно, использует их в качестве средства для трансмиграции через гематоэнцефалический барьер. В работе других авторов показано, что JCV-инфицированные В- и другие мононуклеарные клетки играют основную роль в транспорте и реактивации данного вируса в ЦНС. Оказавшись в ЦНС в результате первичного инфицирования либо в результате спонтанной локальной реактивации (у ВИЧ-инфицированных пациентов), JCV поражает олигодендроциты и астроциты, а также нейроны гранулярных клеток. В результате поражения ЦНС у пациентов развивается ПМЛ [22].

Эпидемиология

ПВ широко распространены в человеческой популяции, антитела к ним присутствуют более чем у 30–90 % взрослого населения, серопозитивность увеличивается с возрастом, что зависит от генотипа

вируса, географической распространенности [7]. Распространенность антител к ВКВ резко возрастает у детей в возрасте от 2 до 4 лет (от 20 до 90 %) [45]. Уровень JCV-специфических антител начинает нарастать у детей в возрасте около 10 лет [46]. В целом в исследованиях показана серопревалентность на уровне 55–90 % для ВКВ и 44–90 % для JCV [6].

Выделение ВКВ и JCV с мочой обнаруживается у 10–30 % здоровых доноров крови во время сдачи крови, при этом средняя вирусная нагрузка мочи составляет 3500 копий/мл и 50 000 копий/мл соответственно. У 50 % людей со сниженным иммунным статусом (например, беременных женщин, пациентов, получающих иммуносупрессивную терапию или химиотерапию) отмечается ВКВ-вирурия, а вирусная нагрузка в моче может составлять $\geq 7 \lg$ копий/мл. В моче также могут быть обнаружены «decoy-cell» (клетки-приманки). Транзиторная вирурия у здоровых встречается чаще при ВКВ-инфекции, чем при JCV-инфекции [7].

Несмотря на многочисленные исследования, пути передачи ПВ не были четко определены ни для одного из вирусов. Для ВКВ и JCV были установлены воздушно-капельный и фекально-оральный путь передачи (фекалии и сточные воды) [47].

Полиомавирус-ассоциированные заболевания

Полиомавирус-ассоциированная нефропатия (ПВАН)

Нефропатия является наиболее серьезным осложнением, вызванным наличием ВКВ, которое может привести к потере пересаженной почки в 50 % случаев [48]. Вирус активно размножается в эпителиальных клетках почечных канальцев и за счет лизиса клеток попадает в дистальные отделы мочевыводящих путей. Затем в моче обнаруживают «клетки-ловушки» (decoy cells) с вирусными включениями в ядрах клеток. После прорыва базальной мембраны эпителия канальцев вирусные частицы попадают в кровоток и возникает виремия.

Геморрагический цистит (ГЦ)

У 5–25 % реципиентов гемопоэтических стволовых клеток полиомавирусная инфекция (далее – ПВИ) может вызвать ГЦ, характеризующийся кровоизлиянием в слизистую оболочку мочевого пузыря с болезненным мочеиспусканием. Тяжесть состояния может варьироваться от незначительной гематурии (1 и 2 степени) до образования тромбов в мочевом пузыре, что в конечном итоге приводит к почечной недостаточности (3 и 4 степени) [49].

Прогрессирующая мультифокальная лейкоэнцефалопатия (ПМЛ)

ПМЛ – редкое, быстро прогрессирующее инфекционное, демиелинизирующее, инвалидизирующее и часто фатальное заболевание ЦНС, вызываемое JCV. Большинство пациентов с развивающейся ПМЛ имеют ослабление клеточного иммунитета, вызванное:

- СПИДом (наиболее распространенный фактор риска);
- расстройствами ретикулоэндотелиальной системы (например, лейкоemia, лимфома);
- другими состояниями (например, синдром Вискотта – Олдрича, трансплантация органов).

Риск развития ПМЛ у больных СПИДом возрастает с увеличением вирусной нагрузки; в настоящее время распространенность ПМЛ уменьшилась в связи с широким применением более эффективных антиретровирусных препаратов.

ПМЛ приводит к тяжелой неврологической инвалидизации и смертности до 30–50 %. Несмотря на исследования, в которых сообщалось об использовании внутривенного иммуноглобулина, мефлохина, миртазапина, цидофовира и бринцидофовира при ПМЛ, общая клиническая эффективность этих методов лечения была противоречивой. Они были эффективны *in vitro*, однако не работали в рамках клинических испытаний. В 2021 г. был описан случай улучшения течения ПМЛ у пациента с системной красной волчанкой на фоне лечения пембролизумабом – наблюдался отсроченный, но эффективный клинический ответ после длительного лечения в отделении интенсивной терапии [22].

Описаны также случаи ВКВ-поражения моста головного мозга и спинного мозга [50], детекции ВКВ и JCV у пациентов с предполагаемым менингитом или энцефалитом [51], генерализованной инфекции [52].

В систематическом обзоре и метаанализе 2022 г. была показана значительная связь между ПВИ и опухолями головного мозга. Более того, эти результаты свидетельствуют о том, что ПВИ может быть потенциальным фактором риска развития рака головного мозга [53].

Лабораторная диагностика ПВИ

«Золотым стандартом» выявления ПВ является полимеразная цепная реакция (далее – ПЦР) с количественным определением вирусной нагрузки в образцах мочи и крови пациента. Мишенями в диагностических наборах чаще всего являются гены белка VP1 или LTA. Обнаружение возбудителей ПВИ

в сыворотке крови с регистрацией значений вирусной нагрузки выше пороговых ($> 10^4$ ГЭ/мл) или в моче ($> 10^7$ ГЭ/мл) является чувствительным и специфичным предиктором развития ПВАН и ГЦ, позволяющим выбрать адекватную лечебную тактику и избежать тяжелых вирусных осложнений у реципиентов. Однако предварительными методами диагностики являются также цитологический (выявление «клеток-ловушек» в моче) и иммуногистохимическое исследование биоптатов почечной ткани. Но данные методы отличаются низкой специфичностью, чувствительностью или инвазивностью.

Полиомавирусы в окружающей среде

JCV рассматривается сегодня и как потенциальный кандидат в индикаторные вирусы при проведении санитарно-вирусологических исследований водных объектов, а также оценке их эпидбезопасности и риска здоровью, в основе которой лежат количественные показатели данных вирусов-контаминантов. Впервые ПВ были обнаружены в образцах окружающей среды в 2000 г. Проведенные исследования по их детекции в пробах неочищенной и очищенной сточной, поверхностной, морской и питьевой воды, а также в моллюсках указывают на высокую частоту их выявления (2–100 %) в высоких концентрациях (до 10^5 копий/л). В отличие от других групп вирусных патогенов, JCV персистирует в организме человека пожизненно и, соответственно, выделяется с мочой в окружающую среду значительным количеством заболевших и бессимптомных носителей. ПВ являются в некоторой степени устойчивыми к повышенным температурам (до 1 часа при 55°C), хлорсодержащим веществам, ультрафиолету, низким уровням pH. ДНК этих вирусов может сохраняться в воде до нескольких месяцев. ПВИ не имеет сезонности, что определяет широкое распространение ее возбудителей в природе [54, 55]. Соответственно, перечисленные свойства дают основания для рекомендаций по использованию JCV в качестве санитарно-показательного маркера фекального загрязнения водных объектов.

Заключение. Вышеизложенная информация свидетельствует о достаточно широкой распространенности ПВ в человеческой популяции и их способности через сточные воды активно контаминировать окружающую среду. Сегодня достоверно известно, что данные патогены могут вызывать полиомавирус-ассоциируемые заболевания, особенно значимые по своим последствиям для иммунокомпрометированных пациентов. Патогенез ПВИ и биология ее возбудителей (не только BKV и JCV) с учетом уже накопленных многочисленных данных требуют дальнейшего изучения для более глубокого понимания происходящих в зараженном организме процессов с целью разработки более эффективных диагностических, лечебных и профилактических подходов и средств.

Литература

1. The ancient evolutionary history of polyomaviruses / C. B. Buck, K. Van Doorslaer, A. Peretti [et al.] // *PLOS Pathogens*. – 2016. – Vol. 12, № 4. – P. e1005574. – DOI: 10.1371/journal.ppat.1005574.
2. Dalianis, T. Human polyomaviruses in disease and cancer / T. Dalianis, H. H. Hirsch // *Virology*. – 2013. – Vol. 437, № 2. – P. 63–72.
3. Taxon Details. History of the taxon: Human polyomavirus 12 (2018 Release, MSL #33) // International Committee on Taxonomy of Viruses. – URL: https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=20184426 (date of access: 01.09.2023).
4. New human papovavirus (B. K.) isolated from urine after renal transplantation / S. D. Gardner, A. M. Field, D. V. Coleman, B. Hulme // *The Lancet*. – 1971. – Vol. 297, № 7712. – P. 1253–1257.
5. Cultivation of papova-like virus from human brain with progressive multifocal leucoencephalopathy / B. L. Padgett, D. L. Walker, G. M. ZuRhein [et al.] // *Lancet*. – 1971. – Vol. 297, № 7712. – P. 1257–1260.
6. Seroepidemiology of human polyomaviruses / J. M. Kean, S. Rao, M. Wang, R. L. Garcea // *PLoS pathogens*. – 2009. – Vol. 5, № 3. – P. e1000363. – DOI: 10.1371/journal.ppat.1000363.
7. Prevalence of polyomavirus BK and JC infection and replication in 400 healthy blood donors / A. Egli, L. Infanti, A. Dumoulin [et al.] // *The Journal of Infectious Diseases*. – 2009. – Vol. 199, № 6. – P. 837–846.
8. Seroprevalence of fourteen human polyomaviruses determined in blood donors / S. Kamminga, E. van der Meijden, M. C. W. Feltkamp, H. L. Zaaijer // *PLoS ONE*. – 2018. – Vol. 13, № 10. – P. e0206273. – DOI: 10.1371/journal.pone.0206273.
9. Polyomavirus BK replication dynamics in vivo and in silico to predict cytopathology and viral clearance in kidney transplants / G. A. Funk, R. Gosert, P. Comoli [et al.] // *American Journal of Transplantation*. – 2008. – Vol. 8, № 11. – P. 2368–2377.
10. Biology, evolution, and medical importance of polyomaviruses: an update / U. Moens, A. Krumbholz, B. Ehlers [et al.] // *Infection, Genetics and Evolution*. – 2017. – Vol. 54 – P. 18–38.
11. ICTV virus taxonomy profile: polyomaviridae / U. Moens, S. Calvignac-Spencer, C. Lauber [et al.] // *The Journal of General Virology*. – 2017. – Vol. 98, № 6. – P. 1159–1160.

12. Archetype and rearranged non-coding control regions in urothelial bladder carcinoma of immunocompetent individuals / E. Anzivino, M. A. Zingaropoli, M. Iannetta [et al.] // *Cancer Genomics Proteomics*. – 2016. – Vol. 13, № 6. – P. 499–509.

13. Moens, U. Polymorphism in the genome of non-passaged human polyomavirus BK: implications for cell tropism and the pathological role of the virus / U. Moens, M. Van Ghelue // *Virology*. – 2005. – Vol. 331, № 2. – P. 209–231.

14. Polyomavirus BK with rearranged noncoding control region emerge in vivo in renal transplant patients and increase viral replication and cytopathology / R. Gosert, C. H. Rinaldo, G. A. Funk [et al.] // *The Journal of Experimental Medicine*. – 2008. – Vol. 205, № 4. – P. 841–852.

15. Next-generation sequencing shows marked rearrangements of BK polyomavirus that favor but are not required for polyomavirus-associated nephropathy / H. Liimatainen, L. Weseslindtner, R. Strassl [et al.] // *Journal of Clinical Virology*. – 2020. – Vol. 122 – P. 104215. – DOI: 10.1016/j.jcv.2019.104215.

16. Jensen, P. N. A classification scheme for human polyomavirus JCV variants based on the nucleotide sequence of the noncoding regulatory region / P. N. Jensen, E. O. Major // *Journal of Neurovirology*. – 2001. – Vol. 7, № 4. – P. 280–287.

17. JCPyV NCCR analysis in PML patients with different risk factors: exploring common rearrangements as essential changes for neuropathogenesis / M. R. Ciardi, M. A. Zingaropoli, M. Iannetta [et al.] // *Virology Journal*. – 2020. – Vol. 17, № 1. – P. 23. – DOI: 10.1186/s12985-020-1295-5.

18. Haley, S. A. Progressive multifocal leukoencephalopathy: endemic viruses and lethal brain disease / S. A. Haley, W. J. Atwood // *Annual Review of Virology*. – 2017. – Vol. 4, № 1. – P. 349–367.

19. Progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) development is associated with mutations in JC virus capsid protein VP1 that change its receptor specificity / L. Gorelik, C. Reid, M. Testa [et al.] // *The Journal of Infectious Diseases*. – 2011. – Vol. 204, № 1. – P. 103–114.

20. Assetta, B. The biology of JC polyomavirus / B. Assetta, W. J. Atwood // *Biological Chemistry*. – 2017. – Vol. 398, № 8. – P. 839–855.

21. JC virus regulatory region rearrangements and genotypes in progressive multifocal leukoencephalopathy: two independent aspects of virus variation / H. T. Agostini, C. F. Ryschkewitsch, E. J. Singer, G. L. Stoner // *The Journal of General Virology*. – 1997. – Vol. 78, № 3. – P. 659–664.

22. Atkinson, A. L. Fifty years of JC polyomavirus: a brief overview and remaining questions / A. L. Atkinson, W. J. Atwood // *Viruses*. – 2020. – Vol. 12, № 9. – P. 969. – DOI: 10.3390/v12090969.

23. JC virus T'135, T'136 and T'165 proteins interact with cellular p107 and p130 in vivo and influence viral transformation potential / B. Bollag, L. H. Kilpatrick, S. K. Tyagarajan [et al.] // *Journal of Neurovirology*. – 2006. – Vol. 12, № 6. – P. 428–442.

24. Polymorphisms of the BK virus subtypes and their influence on viral in vitro growth efficiency / S. Tremolada, S. Delbue, S. Larocca [et al.] // *Virus Research*. – 2010. – Vol. 149, № 2. – P. 190–196.

25. Randhawa, P. BK virus infection in transplant recipients: an overview and update / P. Randhawa, D. C. Brennan // *American Journal of Transplantation*. – 2006. – Vol. 6, № 9. – P. 2000–2005.

26. Daniels, R. A very late viral protein triggers the lytic release of SV40 / R. Daniels, D. Sadowicz, D. N. Hebert // *PLOS Pathogens*. – 2007. – Vol. 3, № 7. – P. e98. – DOI: 10.1371/journal.ppat.0030098.

27. The presumed polyomavirus viroporin VP4 of simian virus 40 or human bk polyomavirus is not required for viral progeny release / S. Henriksen, T. Hansen, J. A. Bruun, C. H. Rinaldo // *Journal of Virology*. – 2016. – Vol. 90, № 22. – P. 10398–10413. – DOI: 10.1128/JVI.01326-16.

28. New structural insights into the genome and minor capsid proteins of BK polyomavirus using cryo-electron microscopy / D. L. Hurdiss, E. L. Morgan, R. F. Thompson [et al.] // *Structure*. – 2016. – Vol. 24, № 4. – P. 528–536.

29. BK polyomavirus-biology, genomic variation and diagnosis / J. Furmaga, M. Kowalczyk, T. Zapolski [et al.] // *Viruses*. – 2021. – Vol. 13, № 8. – P. 1502. – DOI: 10.3390/v13081502.

30. BK polyomavirus: clinical aspects, immune regulation, and emerging therapies / G. R. Ambalathingal, R. S. Francis, M. J. Smyth [et al.] // *Clinical Microbiology Reviews*. – 2017. – Vol. 30, № 2. – P. 503–528.

31. Discovery and characterization of novel trans-spliced products of human polyoma JC virus late transcripts from PML patients / A. S. Saribas, J. DeVoto, A. Golla [et al.] // *Journal of Cellular Physiology*. – 2018. – Vol. 233, № 5. – P. 4137–4155.

32. Expression of novel proteins by polyomaviruses and recent advances in the structural and functional features of agnoprotein of JC virus, BK virus, and simian virus 40 / A. S. Saribas, P. Coric, S. Bouaziz, M. Safak // *Journal of Cellular Physiology*. – 2019. – Vol. 234, № 6. – P. 8295–8315.

33. Genome-wide profiling of BK polyomavirus integration in bladder cancer of kidney transplant recipients reveals mechanisms of the integration at the nucleotide level / Y. Jin, Y. Zhou, W. Deng [et al.] // *Oncogene*. – 2021. – Vol. 40, № 1. – P. 46–54.
34. Donor-derived, metastatic urothelial cancer after kidney transplantation associated with a potentially oncogenic BK polyomavirus / D. C. Müller, M. Rämö, K. Naegele [et al.] // *The Journal of Pathology*. – 2018. – Vol. 244, № 3. – P. 265–270.
35. Viral integration in BK polyomavirus-associated urothelial carcinoma in renal transplant recipients: multistage carcinogenesis revealed by next-generation virome capture sequencing / Y. Wang, Y. Liu, W. Deng [et al.] // *Oncogene*. – 2020. – Vol. 39, № 35. – P. 5734–5742.
36. Cubitt, C. L. Molecular genetics of the BK virus / C. L. Cubitt // *Polyomaviruses and Human Diseases*. – [Publ.] *Advances in Experimental Medicine and Biology*. – 2006. – Vol. 577. – P. 85–95.
37. Genomic typing of BK virus in clinical specimens by direct sequencing of polymerase chain reaction products / L. Jin, P. E. Gibson, J. C. Booth [et al.] // *Journal of Medical Virology*. – 1993. – Vol. 41, № 1. – P. 11–17.
38. Genotyping schemes for polyomavirus BK, using gene-specific phylogenetic trees and single nucleotide polymorphism analysis / C. Luo, M. Bueno, J. Kant [et al.] // *Journal of Virology*. – 2009. – Vol. 83, № 5. – P. 2285–2297.
39. BK polyomavirus genotypes represent distinct serotypes with distinct entry tropism / D. V. Pastrana, U. Ray, T. G. Magaldi [et al.] // *Journal of Virology*. – 2013. – Vol. 87, № 18. – P. 10105–10113.
40. Evolution of the BK polyomavirus: epidemiological, anthropological and clinical implications / Y. Yogo, C. Sugimoto, S. Zhong, Y. Homma // *Reviews in Medical Virology*. – 2009. – Vol. 19, № 4. – P. 185–199.
41. Аринович, А. С. Результаты генодиагностики полиомавирусной инфекции у детей после трансплантации почки / А. С. Аринович // *ЛОМОНОСОВ-2019: материалы Междунар. молодеж. науч. форума, г. Москва, 8–12 апр. 2019 г.* / отв. ред. И. А. Алешковский, А. В. Андриянов, Е. А. Антипов. – М., 2019. – 1 DVD-ROM.
42. Генотипический состав циркулирующих в Республике Белоруси ВК и JC полиомавирусов / К. Л. Дедюля, Н. В. Поклонская, З. Ф. Богуш [и др.] // *Военная медицина*. – 2016. – № 3. – С. 88–91.
43. Evolution of human Polyomavirus JC: implications for the population history of humans / C. Sugimoto, M. Hasegawa, A. Kato [et al.] // *Journal of Molecular Evolution*. – 2002. – Vol. 54, № 3. – P. 285–297.
44. Chapagain, M. L. JCV infection of human B lymphocytes: a possible mechanism for JCV transmigration across the blood-brain barrier / M. L. Chapagain, V. R. Nerurkar // *The Journal of Infectious Diseases*. – 2010. – Vol. 202, № 2. – P. 184–191.
45. BK polyomavirus-specific cellular immune responses are age-dependent and strongly correlate with phases of virus replication / T. Schmidt, C. Adam, H. H. Hirsch [et al.] // *American Journal of Transplantation*. – 2014. – Vol. 14, № 6. – P. 1334–1345.
46. The human JC polyomavirus (JCPyV): virological background and clinical implications / H. H. Hirsch, P. Kardas, D. Kranz, C. Leboeuf // *APMIS*. – 2013. – Vol. 121, № 8. – P. 685–727.
47. Potential transmission of human polyomaviruses through the gastrointestinal tract after exposure to virions or viral DNA / S. Bofill-Mas, M. Formiga-Cruz, P. Clemente-Casares [et al.] // *Journal of Virology*. – 2001. – Vol. 75, № 21. – P. 10290–10299.
48. Hirsch, H. H. BK virus: opportunity makes a pathogen / H. H. Hirsch // *Clinical Infectious Diseases*. – 2005. – Vol. 41, № 3. – P. 354–360.
49. ECIL guidelines for the prevention, diagnosis and treatment of BK polyomavirus-associated haemorrhagic cystitis in haematopoietic stem cell transplant recipients / S. Cesaro, T. Dalianis, C. Hanssen Rinaldo [et al.] // *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. – 2018. – Vol. 73, № 1. – P. 12–21.
50. A child with BK virus infection: inadequacy of current therapeutic strategies / T. Pereira, C. P. Rojas, M. T. Garcia-Buitrago [et al.] // *Pediatric Transplantation*. – 2012. – Vol. 16, № 7. – P. E269–E274.
51. BKV-DNA and JCV-DNA in CSF of patients with suspected meningitis or encephalitis / A. Behzad-Behbahani, P. E. Klapper, P. J. Vallely [et al.] // *Infection*. – 2003. – Vol. 31, № 6. – P. 374–378.
52. BK polyomavirus nephropathy with systemic viral spread: Whole genome sequencing data from a fatal case of BKPyV infection / S. Roy, P. A. Mieczkowski, C. Weida [et al.] // *Transplant Infectious Disease*. – 2020. – Vol. 22, № 2. – P. e13269. – DOI: 10.1111/tid.13269.
53. Association between human polyomavirus infection and brain cancer: a systematic review and meta-analysis / F. Goudarzi Far, V. Tambrchi, R. Nahid Samiei [et al.] // *Microbial Pathogenesis*. – 2022. – Vol. 173, pt. A. – P. 105797. – DOI: 10.1016/j.micpath.2022.105797.

54. Bofill-Mas, S. Excretion and transmission of JCV in human populations / S. Bofill-Mas, R. Girones // *Journal of Neurovirology*. – 2001. – Vol. 7, № 4. – P. 345–349.

55. Rachmadi, A. T. Human polyomavirus: advantages and limitations as a human-specific viral marker in aquatic environments / A. T. Rachmadi, J. R. Torrey, M. Kitajima // *Water Research*. – 2016. – Vol. 105. – P. 456–469.

Arynovich A. S.

MOLECULAR BIOLOGY, PATHOGENESIS AND CLINICAL ASPECTS OF HUMAN POLYOMAVIRUSES (BKV AND JCV)

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

BKV and JCV polyomaviruses – members of the *Polyomaviridae* family – are widespread in the human population. Although these viruses do not cause significant clinical symptoms in immunocompetent individuals, they are activated in cases of immunodeficiency – both pharmacological and pathological, causing severe complications, up to lethal.

The article presents a literature review describing the biological structure of BKV and JCV, the organization of their genome, the classification of serotypes, subtypes and genotypes, the epidemiology and pathogenesis of infections caused by them, and representation in environmental objects. The clinical manifestations of polyomavirus infection and known methods of its laboratory diagnosis are also considered.

Keywords: polyomaviruses, BKV, JCV, polyomavirus infection.

References

1. Buck C. B., Van Doorslaer K., Peretti A. et al. The ancient evolutionary history of polyomaviruses. *PLoS Pathog.* 2016; 12(4): e1005574. DOI: 10.1371/journal.ppat.1005574.

2. Dalianis T., Hirsch H. H. Human polyomaviruses in disease and cancer. *Virology*. 2013; 437(2): 63–72.

3. Taxon Details. History of the taxon: Human polyomavirus 12 (2018 Release, MSL #33). In: International Committee on Taxonomy of Viruses. Available at: https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=20184426 (accessed 01 September 2023).

4. Gardner S. D., Field A. M., Coleman D. V., Hulme B. New human papovavirus (B.K.) isolated from urine after renal transplantation. *Lancet*. 1971; 297(7712): 1253–7.

5. Padgett B. L., Walker D. L., Zur Rhein G. M. et al. Cultivation of papova-like virus from human brain with progressive multifocal leucoencephalopathy. *Lancet*. 1971; 297(7712): 1257–60.

6. Kean J. M., Rao S., Wang M., Garcea R. L. Seroepidemiology of human polyomaviruses. *PLoS Pathog.* 2009; 5(3): e1000363. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000363.

7. Egli A., Infanti L., Dumoulin A. et al. Prevalence of polyomavirus BK and JC infection and replication in 400 healthy blood donors. *J Infect Dis*. 2009; 199(6): 837–46.

8. Kamminga S., van der Meijden E., Feltkamp M. C. W., Zaaijer H. L. Seroprevalence of fourteen human polyomaviruses determined in blood donors. *PLoS One*. 2018; 13(10): e0206273. DOI: 10.1371/journal.pone.0206273.

9. Funk G. A., Gosert R., Comoli P. et al. Polyomavirus BK replication dynamics in vivo and in silico to predict cytopathology and viral clearance in kidney transplants. *Am J Transplant*. 2008; 8(11): 2368–77.

10. Moens U., Krumbholz A., Ehlers B. et al. Biology, evolution, and medical importance of polyomaviruses: an update. *Infect Genet Evol*. 2017; 54: 18–38.

11. Moens U., Calvignac-Spencer S., Lauber C. et al. ICTV virus taxonomy profile: polyomaviridae. *J Gen Virol*. 2017; 98(6): 1159–60.

12. Anzivino E., Zingaropoli M. A., Iannetta M. et al. Archetype and rearranged non-coding control regions in urothelial bladder carcinoma of immunocompetent individuals. *Cancer Genomics Proteomics*. 2016; 13(6): 499–509.

13. Moens U., Van Ghelue M. Polymorphism in the genome of non-passaged human polyomavirus BK: implications for cell tropism and the pathological role of the virus. *Virology*. 2005; 331(2): 209–31.

14. Gosert R., Rinaldo C. H., Funk G. A. et al. Polyomavirus BK with rearranged noncoding control region emerge in vivo in renal transplant patients and increase viral replication and cytopathology. *J Exp Med*. 2008; 205(4): 841–52.

15. Liimatainen H., Weseslindtner L., Strassl R. et al. Next-generation sequencing shows marked rearrangements of BK polyomavirus that favor but are not required for polyomavirus-associated nephropathy. *J Clin Virol*. 2020; 122: 104215. DOI: 10.1016/j.jcv.2019.104215.

16. Jensen P. N., Major E. O. A classification scheme for human polyomavirus JCV variants based on the nucleotide sequence of the noncoding regulatory region. *J Neurovirol.* 2001; 7(4): 280–7.
17. Ciardi M. R., Zingaropoli M. A., Iannetta M. et al. JCPyV NCCR analysis in PML patients with different risk factors: exploring common rearrangements as essential changes for neuropathogenesis. *Virology.* 2020; 17(1): 23. DOI: 10.1186/s12985-020-1295-5.
18. Haley S. A., Atwood W. J. Progressive multifocal leukoencephalopathy: endemic viruses and lethal brain disease. *Annu Rev Virol.* 2017; 4(1): 349–67.
19. Gorelik L., Reid C., Testa M. et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) development is associated with mutations in JC virus capsid protein VP1 that change its receptor specificity. *J Infect Dis.* 2011; 204(1): 103–14.
20. Assetta B., Atwood W. J. The biology of JC polyomavirus. *Biol Chem.* 2017; 398(8): 839–55.
21. Agostini H. T., Ryschkewitsch C. F., Singer E. J., Stoner G. L. JC virus regulatory region rearrangements and genotypes in progressive multifocal leukoencephalopathy: two independent aspects of virus variation. *J Gen Virol.* 1997; 78 (3): 659–64.
22. Atkinson A. L., Atwood W. J. Fifty years of JC polyomavirus: a brief overview and remaining questions. *Viruses.* 2020; 12(9): 969. DOI: 10.3390/v12090969.
23. Bollag B., Kilpatrick L. H., Tyagarajan S. K. et al. JC virus T'135, T'136 and T'165 proteins interact with cellular p107 and p130 in vivo and influence viral transformation potential. *J Neurovirol.* 2006; 12(6): 428–42.
24. Tremolada S., Delbue S., Larocca S. et al. Polymorphisms of the BK virus subtypes and their influence on viral in vitro growth efficiency. *Virus Res.* 2010; 149(2): 190–6.
25. Randhawa P., Brennan D. C. BK virus infection in transplant recipients: an overview and update. *Am J Transplant.* 2006; 6(9): 2000–5.
26. Daniels R., Sadowicz D., Hebert D. N. A very late viral protein triggers the lytic release of SV40. *PLoS Pathog.* 2007; 3(7): e98. DOI: 10.1371/journal.ppat.0030098.
27. Henriksen S., Hansen T., Bruun J. A., Rinaldo C. H. The presumed polyomavirus viroporin VP4 of simian virus 40 or human BK polyomavirus is not required for viral progeny release. *J Virol.* 2016; 90(22): 10398–413.
28. Hurdiss D. L., Morgan E. L., Thompson R. F. et al. New structural insights into the genome and minor capsid proteins of BK polyomavirus using cryo-electron microscopy. *Structure.* 2016; 24(4): 528–36.
29. Furmaga J., Kowalczyk M., Zapolski T. et al. BK polyomavirus-biology, genomic variation and diagnosis. *Viruses.* 2021; 13(8): 1502. DOI: 10.3390/v13081502.
30. Ambalathingal G. R., Francis R. S., Smyth M. J. et al. BK polyomavirus: clinical aspects, immune regulation, and emerging therapies. *Clin Microbiol Rev.* 2017; 30(2): 503–28.
31. Saribas A. S., DeVoto J., Golla A. et al. Discovery and characterization of novel trans-spliced products of human polyoma JC virus late transcripts from PML patients. *J Cell Physiol.* 2018; 233(5): 4137–55.
32. Saribas A. S., Coric P., Bouaziz S., Safak M. Expression of novel proteins by polyomaviruses and recent advances in the structural and functional features of agnoprotein of JC virus, BK virus, and simian virus 40. *J Cell Physiol.* 2019; 234(6): 8295–315.
33. Jin Y., Zhou Y., Deng W. et al. Genome-wide profiling of BK polyomavirus integration in bladder cancer of kidney transplant recipients reveals mechanisms of the integration at the nucleotide level. *Oncogene.* 2021; 40(1): 46–54.
34. Müller D. C., Rämö M., Naegele K. et al. Donor-derived, metastatic urothelial cancer after kidney transplantation associated with a potentially oncogenic BK polyomavirus. *J Pathol.* 2018; 244(3): 265–70.
35. Wang Y., Liu Y., Deng W. et al. Viral integration in BK polyomavirus-associated urothelial carcinoma in renal transplant recipients: multistage carcinogenesis revealed by next-generation virome capture sequencing. *Oncogene.* 2020; 39(35): 5734–42.
36. Cubitt C. L. Molecular genetics of the BK virus. In: Polyomaviruses and Human Diseases. In: *Adv Exp Med Biol.* 2006; 577: 85–95.
37. Jin L., Gibson P. E., Booth J. C. et al. Genomic typing of BK virus in clinical specimens by direct sequencing of polymerase chain reaction products. *J Med Virol.* 1993; 41(1): 11–7.
38. Luo C., Bueno M., Kant J. et al. Genotyping schemes for polyomavirus BK, using gene-specific phylogenetic trees and single nucleotide polymorphism analysis. *J Virol.* 2009; 83(5): 2285–97.
39. Pastrana D. V., Ray U., Magaldi T. G. et al. BK polyomavirus genotypes represent distinct serotypes with distinct entry tropism. *J Virol.* 2013; 87(18): 10105–13.
40. Yogo Y., Sugimoto C., Zhong S., Homma Y. Evolution of the BK polyomavirus: epidemiological, anthropological and clinical implications. *Rev Med Virol.* 2009; 19(4): 185–99.

41. Arinovich A. S. Results of genodiagnostics of polyomavirus infection in pediatric renal recipients. In: Aleshkovskij I. A., Andriyanov A. V., Antipov E. A., eds. LOMONOSOV-2019: Materialy Mezhdunar. molodezh. nauch. foruma, g. Moskva, 8–12 apr. 2019 g. Moscow; 2019. 1 DVD-ROM. (in Russian)
42. Dziadziulia K. L., Paklonskaya N. V., Bogush Z. F. et al. Genotyping of BK and JC polyomaviruses circulating in Belarus. *Voen Med.* 2016; (3): 88–91. (in Russian)
43. Sugimoto C., Hasegawa M., Kato A. et al. Evolution of human Polyomavirus JC: implications for the population history of humans. *J Mol Evol.* 2002; 54(3): 285–97.
44. Chapagain M. L., Nerurkar V. R. Human polyomavirus JC (JCV) infection of human B lymphocytes: a possible mechanism for JCV transmigration across the blood-brain barrier. *J Infect Dis.* 2010; 202(2): 184–91.
45. Schmidt T., Adam C., Hirsch H. H. et al. BK polyomavirus-specific cellular immune responses are age-dependent and strongly correlate with phases of virus replication. *Am J Transplant.* 2014; 14(6): 1334–45.
46. Hirsch H. H., Kardas P., Kranz D., Leboeuf C. The human JC polyomavirus (JCPyV): virological background and clinical implications. *APMIS.* 2013; 121(8): 685–727.
47. Bofill-Mas S., Formiga-Cruz M., Clemente-Casares P. et al. Potential transmission of human polyomaviruses through the gastrointestinal tract after exposure to virions or viral DNA. *J Virol.* 2001; 75(21): 10290–9.
48. Hirsch H. H. BK virus: opportunity makes a pathogen. *Clin Infect Dis.* 2005; 41(3): 354–60.
49. Cesaro S., Dalianis T., Hanssen Rinaldo C. et al. ECIL guidelines for the prevention, diagnosis and treatment of BK polyomavirus-associated haemorrhagic cystitis in haematopoietic stem cell transplant recipients. *J Antimicrob Chemother.* 2018; 73(1): 12–21.
50. Pereira T., Rojas C. P., Garcia-Buitrago M. T. et al. A child with BK virus infection: inadequacy of current therapeutic strategies. *Pediatr Transplant.* 2012; 16(7): E269–E74.
51. Behzad-Behbahani A., Klapper P. E., Vallely P. J. et al. BKV-DNA and JCV-DNA in CSF of patients with suspected meningitis or encephalitis. *Infection.* 2003; 31(6): 374–8.
52. Roy S., Mieczkowski P. A., Weida C. et al. BK polyomavirus nephropathy with systemic viral spread: whole genome sequencing data from a fatal case of BKPyV infection. *Transpl Infect Dis.* 2020; 22(2): e13269. DOI: 10.1111/tid.13269.
53. Goudarzi Far F., Tambrchi V., Nahid Samiei R. et al. Association between human polyomavirus infection and brain cancer: a systematic review and meta-analysis. *Microb Pathog.* 2022; 173(Pt. A): 105797. DOI: 10.1016/j.micpath.2022.105797.
54. Bofill-Mas S., Girones R. Excretion and transmission of JCV in human populations. *J Neurovirol.* 2001; 7(4): 345–9.
55. Rachmadi A. T., Torrey J. R., Kitajima M. Human polyomavirus: advantages and limitations as a human-specific viral marker in aquatic environments. *Water Res.* 2016; 105: 456–69.

e-mail для переписки: arinovich.a@gmail.com

Поступила 11.10.2024

УДК 579.63:578.827.2:574.21:628.4.042

Аринович А. С., Амвросьева Т. В.

РЕЗУЛЬТАТЫ ДЕТЕКЦИИ ПОЛИОМАВИРУСОВ В СТОЧНЫХ ВОДАХ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии
и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Целью настоящей работы было изучение частоты детекции BKV и JCV полиомавирусов (далее – ПВ) в пробах сточных вод, отобранных в разных регионах Республики Беларусь в 2019–2023 гг. Полученные данные указывают на достаточно высокий уровень присутствия ПВ в анализируемых сточных водах. При отсутствии выраженной сезонности частота их обнаружения в целом по стране составила 26,0 %. Наиболее высокий показатель был зарегистрирован в Гомельской области (46,8 % [35,65 %; 57,95 %]). По результатам сравнительных исследований сточных вод на предмет выявления

ПВ и кишечных вирусов (норо-, рота-, энтеровирусов) установлено, что последние обнаруживались значительно реже (частота их детекции составила 10,5 %, 12,6 %, 9,3 % соответственно).

Представленные данные свидетельствуют о перспективности исследований сточных вод в отношении ПВ, наличие которых в этих объектах отражает распространенность данных патогенов, в том числе скрытую циркуляцию, среди населения. Благодаря отсутствию сезонных различий в детекции ПВ и их высокой устойчивости в природе, они в перспективе могут претендовать на роль дополнительных индикаторов вирусного загрязнения объектов окружающей среды.

Ключевые слова: полиомавирусы, BKV, JCV, сточная вода, окружающая среда, фекальное загрязнение.

Введение. Первое документальное подтверждение присутствия BKV и JCV полиомавирусов (далее – ПВ) в образцах окружающей среды отмечено в 2000 году. В работе Vofill-Mas S. и др. предложено рассмотреть JCV на роль потенциального маркера фекального загрязнения антропогенного происхождения [1]. С тех пор проведено большое количество исследований по всему миру, посвященных выявлению ПВ человека в пробах сточной, поверхностной, морской, питьевой воды, а также в моллюсках. Частота их детекции варьировалась от 2 % до 100 % [2].

BKV и JCV относятся к роду *Ortholopolyomavirus* семейства *Polyomaviridae* человека, имеют вирион диаметром 40–50 нм и содержат кольцевую двухцепочечную ДНК размером около 5,13 т.п.н. Ими инфицировано от 70 до 90 % взрослого населения [3]. ПВ персистируют в организме человека пожизненно, в частности, в клетках мочевыделительной системы, мозга, селезенки и В-лимфоцитах, выделяются с мочой значительным количеством заболевших и бессимптомных носителей разных возрастных групп. Они обладают высокой устойчивостью к низкому pH, хлору, ультрафиолетовому излучению и температуре, их ДНК сохраняется в воде в течение нескольких месяцев. ПВ инфекция не имеет сезонности, на что указывают и многочисленные исследования, посвященные обнаружению ПВ в сточных водах в течение 6 месяцев и более. BKV и JCV характеризуются высокой специфичностью к человеку, они не были обнаружены в сточных водах ферм/животноводческих помещений и в фекалиях животных [2]. Все вышеперечисленные факторы определяют широкое распространение данных вирусов в объектах окружающей среды, которые могут выступать в качестве возможных факторов их передачи человеку.

Цель работы – изучение частоты детекции BKV и JCV полиомавирусов в образцах сточных вод, отобранных в разных регионах Республики Беларусь в 2019–2023 гг.

Материалы и методы. Ретроспективно проанализировано 419 образцов сточной воды, отобранных на территории г. Минска (n = 94), Минской (n = 82), Брестской (n = 44), Витебской (n = 52), Гомельской (n = 77), Гродненской (n = 27), Могилевской (n = 43) областей в 2019–2023 гг. из различных точек отбора, включая коммунальные коллекторы, точки различных учреждений здравоохранения, дошкольных учреждений и др.

Пробы сточной воды отбирали с использованием «Набора для сбора и концентрирования вирусов из питьевой воды в системе децентрализованного хозяйственно-питьевого водоснабжения, поверхностных и сточных вод» в соответствии с инструкцией по применению. Для выделения вирусных нуклеиновых кислот применялся коммерческий набор «НК-экстра» (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Беларусь), для детекции ДНК BKV и JCV – «Набор реагентов для выявления и количественного определения ДНК BK вируса (BKV), JC вируса (JCV) и аденовирусов (AdV) методом полимеразной цепной реакции (далее – ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «BKV-JCV-AdV» (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Беларусь), РНК кишечных вирусов – ротавируса, норовирусов 2 генотипов, энтеровирусов набором для постановки ОТ-ПЦР в одной пробирке «Набор для выявления ДНК (РНК) кишечных вирусов методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «ОКВИ-ПЦР» (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Беларусь). Доверительные интервалы долей рассчитывали по распределению Пуассона (через χ^2), достоверность обнаруживаемых различий в частоте выявления вирусов оценивали на основании критерия χ^2 .

Результаты и их обсуждение. Проведенный анализ результатов исследования показал, что 26,0 % [21,8 %; 30,2 %] образцов сточной воды содержали ДНК BKV и/или JCV. При этом 10,02 % [7,14 %; 12,9 %] были отобраны из точек сброса сточных вод из учреждений здравоохранения. По 10,3 % [7,39 %; 13,21 %] проб были положительны только на BKV или JCV, а в 5,5 % [3,32 %; 7,68 %] были детектированы маркеры обоих вирусов.

Далее полученные данные были проанализированы по годам, сезонам и месяцам отбора проб (таблица 1).

Таблица 1 – Частота выявления ПВ в образцах сточных вод в зависимости от года, сезона или месяца отбора

Год	Доля положительных образцов				
	ВКВ+	ВКВ+JCV+	JCV+	ПВ+	
2019 (n = 29)	17,2 %	0,0 %	3,4 %	20,7 %	[5,95 %; 35,45 %]
2020 (n = 72)	16,7 %	8,3 %	2,8 %	27,8 %	[17,45 %; 38,15 %]
2021 (n = 121)	5,0 %	1,7 %	7,4 %	14,0 %	[7,82 %; 20,18 %]
2022 (n = 35)	8,6 %	8,6 %	8,6 %	25,7 %	[11,22 %; 40,18 %]
2023 (n = 162)	10,5 %	7,4 %	17,3 %	35,2 %	[27,85 %; 42,55 %]
Сезон					
Зима (n = 139)	11,5 %	6,5 %	13,7 %	31,7 %	[25,84 %; 41,56 %]
Весна (n = 108)	7,4 %	3,7 %	3,7 %	14,8 %	[8,10 %; 21,50 %]
Лето (n = 80)	8,7 %	3,7 %	16,2 %	28,8 %	[18,88 %; 38,72 %]
Осень (n = 92)	13,0 %	9,8 %	7,6 %	30,4 %	[21,00 %; 39,80 %]
Месяц					
Январь (n = 46)	17,4 %	6,5 %	13,0 %	37,0 %	[23,05 %; 50,95 %]
Февраль (n = 36)	5,6 %	2,8 %	13,9 %	22,2 %	[8,62 %; 35,78 %]
Март (n = 38)	10,5 %	5,3 %	2,6 %	18,4 %	[6,08 %; 30,72 %]
Апрель (n = 32)	3,1 %	0,0 %	6,3 %	9,4 %	[-0,71 %; 19,51 %]
Май (n = 38)	7,9 %	5,3 %	2,6 %	15,8 %	[4,20 %; 27,40 %]
Июнь (n = 29)	3,4 %	0,0 %	6,9 %	10,3 %	[-0,76 %; 21,36 %]
Июль (n = 16)	12,5 %	6,3 %	31,3 %	50,0 %	[25,50 %; 74,50 %]
Август (n = 35)	11,4 %	5,7 %	17,1 %	34,3 %	[18,57 %; 50,03 %]
Сентябрь (n = 29)	27,6 %	13,8 %	17,2 %	58,6 %	[40,67 %; 76,53 %]
Октябрь (n = 15)	6,7 %	13,3 %	0,0 %	20,0 %	[-5,92 %; 45,92 %]
Ноябрь (n = 48)	6,3 %	6,3 %	4,2 %	16,7 %	[6,15 %; 27,25 %]
Декабрь (n = 57)	10,5 %	8,8 %	14,0 %	33,3 %	[21,07 %; 45,53 %]

Несмотря на то что по частоте обнаружения ПВ по месяцам можно заметить довольно выраженную вариабельность (9,4 %–58,6 %), сравнительный анализ самых высоких показателей по годам/сезонам (2023 год/зима) и самых низких (2021 год/весна) не выявил статистически значимых различий ($p > 0,05$).

На рисунке 1 представлены данные о частоте выявления ПВ в образцах, поступивших из разных регионов республики. Наименьшая доля положительных проб отмечена в Могилевской области, что может быть обусловлено различными факторами, в том числе и несоблюдением технологии отбора проб. Частота выявления ПВ в Гомельской области (46,8 % [35,65 %; 57,95 %]) оказалась статистически значимо выше ($p < 0,05$), чем в Брестской (13,6 % [3,47 %; 23,73 %]) и Минской (23,2 % [14,06 %; 32,34 %]) областях, городе Минске (30,9 % [21,56 %; 40,24 %]).

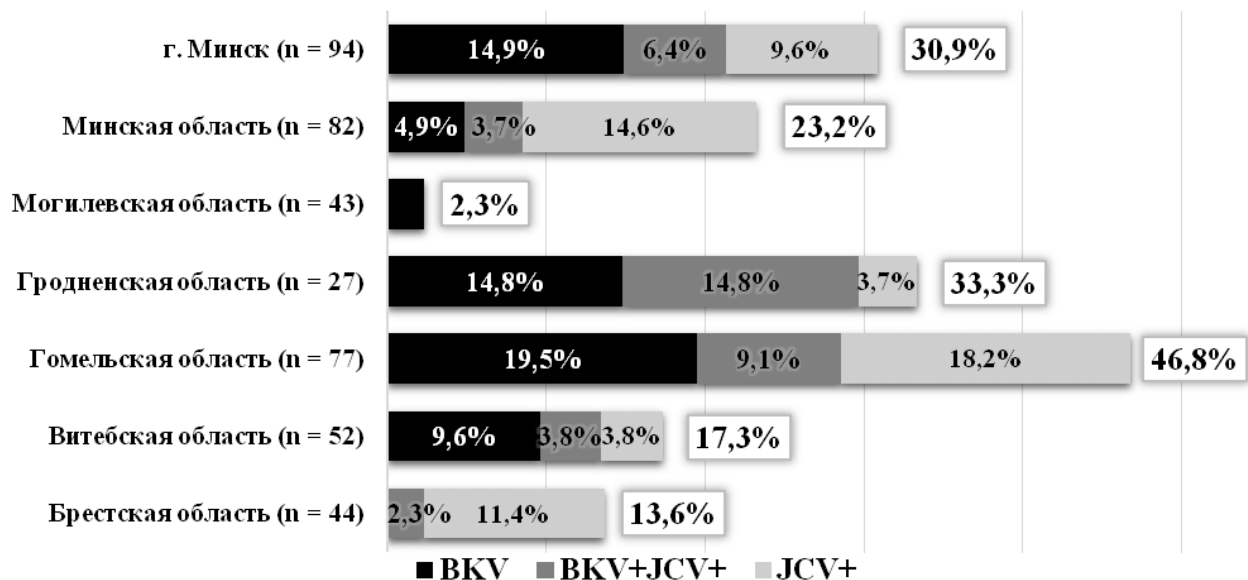
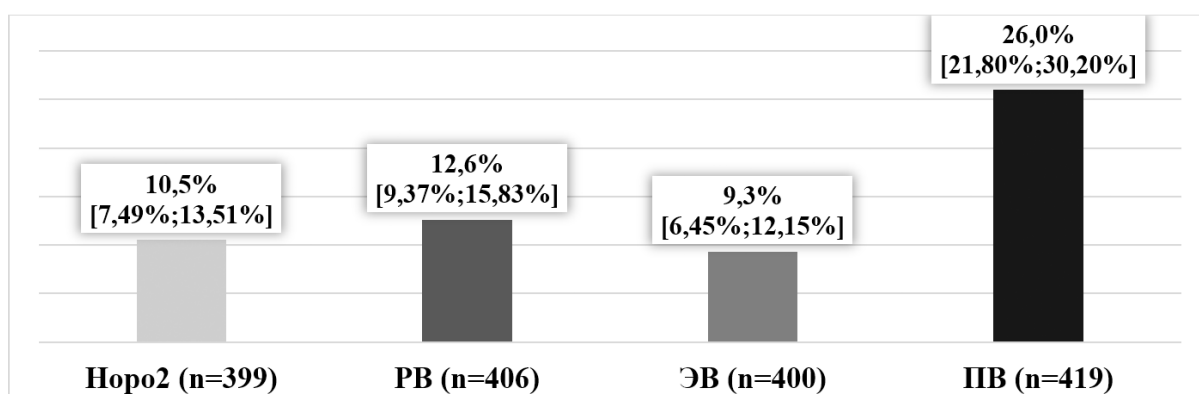


Рисунок 1 – Частота выявления ПВ в образцах, поступивших из разных регионов

Проведена оценка показателей частоты обнаружения ПВ в сточных водах в сравнении такими возбудителями кишечных вирусных инфекций (норовирусами 2 геногруппы, ротавирусами), а также энтеровирусами (ЭВ), которые в настоящее время используются в качестве индикаторов фекального загрязнения воды (питьевой, водоисточников, открытых водоемов) в соответствии с действующими на территории Республики Беларусь санитарно-гигиеническими нормативами. По результатам выполненных сравнительных исследований частота выявления ПВ (26,0 %) оказалась выше, чем кишечных вирусов (норовирусы – 10,5 %, ротавирусы – 12,6 %) и ЭВ (9,3 %), хотя статистически достоверных различий в полученных данных отмечено не было ($p > 0,05$) (рисунок 2). Не обнаружено также корреляции между частотой выявления ПВ и кишечных вирусов в сточных водах, отобранных в коллекторах учреждений здравоохранения (в т. ч. инфекционных клиник) и в не связанных с ними точках отбора (бытовые коллекторы жилых кварталов, предприятий, образовательных учреждений).



Норо2 – норовирусы 2 геногруппы; РВ – ротавирусы; ЭВ – энтеровирусы;
ПВ – полиомавирусы (BKV и JCV).

Рисунок 2 – Частота выявления кишечных вирусов и ПВ

Самые высокие концентрации генетического материала ПВ были детектированы в пробах сточных вод из учреждений здравоохранения. Наибольшая вирусная нагрузка была выявлена в сточной воде детского дошкольного учреждения, что было ожидаемо с учетом информации о раннем возрасте первичного заражения детей данными вирусами.

Заключение. Полученные в настоящем исследовании результаты указывают на достаточно высокий уровень присутствия ПВ в анализируемых сточных водах (26,0 %) при отсутствии выраженной сезонности в частоте их обнаружения и наличии некоторых различий в показателях по регионам страны.

Представленные данные свидетельствуют о перспективности исследований сточных вод в отношении ПВ, наличие которых в этих объектах отражает распространенность данных патогенов, в том числе скрытую циркуляцию, среди населения. Благодаря отсутствию сезонных различий в детекции ПВ, их высокой устойчивости к физико-химическим факторам и более широкой по сравнению с ЭВ циркуляцией в природе они в перспективе могут претендовать на роль дополнительных индикаторов вирусного загрязнения объектов окружающей среды.

Литература

1. Bofill-Mas, S. Documenting the epidemiologic patterns of polyomaviruses in human populations by studying their presence in urban sewage / S. Bofill-Mas, S. Pina, R. Girones // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2000. – Vol. 66, № 1. – P. 238–245.

2. Rachmadi, A. T. Human polyomavirus: Advantages and limitations as a human-specific viral marker in aquatic environments / A.T. Rachmadi, J. R. Torrey, M. Kitajima // *Water Research*. – 2016. – Vol. 105. – P. 456–469.

3. Biology, evolution, and medical importance of polyomaviruses: an update / U. Moens, A. Krumbholz, B. Ehlers [et al.] // *Infection, Genetics and Evolution*. – 2017. – Vol. 54 – P. 18–38.

Arynovich A. S., Amvrosieva T. V.

POLYOMAVIRUSES AS INDICATORS OF ANTHROPOGENIC FECAL POLLUTION OF ENVIRONMENT

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

The purpose of this work was to study the frequency of detection of BKV and JCV polioviruses (hereinafter – PV) in wastewater samples taken in different regions of the Republic of Belarus in 2019–2023.

The data obtained indicate a rather high level of PV presence in the analyzed wastewater. In the absence of pronounced seasonality, the frequency of their detection in the whole country was 26.0 %. The highest rate was registered in the Gomel region (46.8 % [35.65 %; 57.95 %]). According to the results of comparative studies of wastewater for the detection of PV and intestinal viruses (noro-, rota-, enteroviruses), it was found that the latter were detected much less frequently (the frequency of their detection was 10.5 %, 12.6 %, 9.3 % respectively).

The data herein demonstrate the prospects of wastewater research in relation to PV as the presence of these pathogens in the facilities reflects the prevalence among the population including latent circulation. Due to the absence of seasonal differences in the detection of PV and their high stability in nature, they can potentially claim to be additional indicators of viral pollution of environmental objects.

Keywords: polyomaviruses, BKV, JCV, wastewater, environment, fecal contamination.

References

1. Bofill-Mas S., Pina S., Girones R. Documenting the epidemiologic patterns of polyomaviruses in human populations by studying their presence in urban sewage. *Appl Environ Microbiol*. 2000; 66(1): 238–45.

2. Rachmadi A. T., Torrey J. R., Kitajima M. Human polyomavirus: Advantages and limitations as a human-specific viral marker in aquatic environments. *Water Res*. 2016; 105: 456–69.

3. Moens U., Krumbholz A., Ehlers B. et al. Biology, evolution, and medical importance of polyomaviruses: an update. *Infect Genet Evol*. 2017; 54: 18–38.

e-mail для переписки: arinovich.a@gmail.com

Поступила 11.10.2024

Бельская И. В., Амвросьева Т. В., Богуш З. Ф., Поклонская Н. В., Семенов С. Ф., Климович О. В.

АНАЛИЗ РЕПРЕЗЕНТАТИВНОСТИ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ПРИ ОЦЕНКЕ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ПРОТИВ SARS-COV-2 В УСЛОВИЯХ РАЗВИТИЯ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Закономерности, установленные в данном исследовании, основаны на изучении кросс-реактивности, кросс-нейтрализующих свойств вирус-специфических антител и их avidности, выработанных на пред-Omicron и Omicron геноварианты SARS-CoV-2. Полученные результаты выявили вариант-независимый характер определения антиN IgG, в то время как возможность обнаружения антиS IgG имела выраженную зависимость от серотипа вируса, что подтверждается на уровне качественного и количественного серологического анализа, а также в реакции нейтрализации разных геновариантов SARS-CoV-2. Обоснована необходимость изучения avidности противовирусных антител при оценке их протективности в отношении геновариантов вируса, относящихся к одному серотипу. Полученные результаты свидетельствуют о том, что для обеспечения адекватной серодиагностики COVID-19 в постпандемический период на фоне регулярной смены доминирующих геновариантов возбудителя целесообразно учитывать несколько параметров: концентрацию, avidность и вируснейтрализующую активность противовирусных антител с учетом текущей серо- и генотипической дифференциации SARS-CoV-2.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, гуморальный иммунитет, кросс-реактивность IgG, протективность иммунного ответа, нейтрализация вируса, avidность антител.

Введение. Согласно данным Глобальной системы эпидемического надзора за гриппом, SARS-CoV-2 продолжает занимать лидирующие позиции в этиологической структуре ОРВИ [1]. Несмотря на текущий эндемичный статус COVID-19, константное появление новых вариантов и субвариантов его возбудителя в результате адаптивной селекции вируса обуславливает определенные риски возникновения очередной волны SARS-CoV-2-ассоциированного заболевания. Таким образом, наступление постпандемического периода не снижает актуальности направлений, касающихся отслеживания вариантов вируса, исследования иммунного ответа к ним, а также разработку эффективных средств вакцинопрофилактики COVID-19.

До настоящего времени выделено 5 серотипов SARS-CoV-2 на основе антигенных свойств рецептор-связывающего домена (далее – РСД) S белка вируса. Серотип I объединяет все пред-Omicron геноварианты, в то время как Omicron и его субварианты распределены в пределах II–V серотипов. Антитела против разных серотипов SARS-CoV-2 характеризуются ограниченной кросс-реактивностью [2], в связи с чем доминирование новых антигенно отличных геновариантов сопровождается неизбежным подъемом заболеваемости с увеличением числа госпитализаций [3]. Одним из недавних проявлений коэволюционного аспекта в развитии отношений вирус-хозяин стало переключение доминирующей сублинии с ХВВ.1.5 (SARS-CoV-2 Omicron Kraken) на ВА.2.86 (SARS-CoV-2 Omicron Pirola) вследствие иммунизации населения вакцинами, направленными на индукцию антиS IgG к субварианту ХВВ.1.5. Варианты, относящиеся к сублинии ВА.2.86, включая превалирующие в данный момент, КР.2.3, LB.1, КР3.1.1 характеризовались выраженной способностью к уклонению от ХВВ.1.5-обусловленного иммунитета, что позволило выделить их в отдельный VI серотип [4, 5]. Вовлекая множество механизмов уклонения от вирус-специфического иммунного ответа хозяина, SARS-CoV-2 также манипулирует аффинностью РСД к клеточному рецептору ангиотензинпревращающему ферменту-2 (АПФ-2), которая, как правило, становится выше с появлением нового доминирующего варианта [6]. Таким образом, антитела, выработанные к РСД более низкой аффинности, утрачивают способность вступать в конкурентные отношения с АПФ-2 за связывание вирусного антигена даже в условиях сформированного напряженного иммунного ответа к ранее циркулирующему геноварианту.

Наличие широко спектра антигенно различных геновариантов оказало влияние и на результативность серодиагностики COVID. Так, при принятой ВОЗ международной стандартизации количественного определения антиS SARS-CoV-2 IgG диагностические наборы показывали невысокую степень гармонизации результатов [7], которые не коррелировали с титром вируснейтрализующих антител [8].

Принимая во внимание новое в Республике Беларусь направление научно-инновационной деятельности, посвященной разработке средств вакцинопрофилактики вирусных инфекций человека,

очевидно, что существующие методы изучения гуморального иммунитета и используемые для это диагностические средства требуют определенной адаптации, обусловленной эволюционными изменениями SARS-CoV-2.

Цель – изучить основные характеристики серологических маркеров гуморального иммунитета к SARS-CoV-2 с оценкой их репрезентативности и протективности в условиях смены доминирующих геновариантов.

Материалы и методы. Установление вариант-обусловленных различий серодиагностики COVID-19 проводили на основе параметров кросс-реактивности и кросс-нейтрализации анти-SARS-CoV-2 IgG в трех группах респондентов, получивших однократный (до 1 месяца после появления первых признаков заболевания) или множественный вирус-специфический антигенный стимул.

Группа «COVID-19 Wuhan-Hu-1» включала 46 пациентов с подтвержденным методом полимеразной цепной реакции (далее – ПЦР) COVID-19. Геновариант, ассоциированный с SARS-CoV-2-инфекцией, в данной группе респондентов устанавливали путем секвенирования гена, кодирующего аминокислотную последовательность его N белка (1257 пар оснований). Взятие биологического материала осуществляли в период с апреля по сентябрь 2020 года.

Группа «COVID-19 Omicron» включала 65 пациентов, для которых этиологический агент заболевания был верифицирован с помощью набора АртТест COVID-19 («АртБиотех», Беларусь), предназначенного для типирования возбудителя COVID-19. В соответствии с анамнестическими сведениями, респонденты группы не были вакцинированы и не отмечали у себя предшествующих признаков респираторных заболеваний с начала пандемического периода. Биологический материал собран в период с марта по июнь 2022 года.

Группа «Гибридный иммунитет» состояла из 46 респондентов, которые получили многократный антигенный стимул в результате вакцинации и подтвержденной SARS-CoV-2-инфекции.

Исследование связи показателей серологических маркеров с длительностью периода, в течение которого не регистрировался симптоматический COVID-19, выполняли в группе лиц со сформированным иммунитетом в отношении пред-Omicron геновариантов SARS-CoV-2 (РСД I серотипа), которые в последующем вторично перенесли COVID-19, ассоциированный с вариантами РСД I серотипа (n = 59) или РСД II серотипа (Omicron-варианты, n = 22).

Респонденты, биологический материал которых был использован, подписали информированное согласие на участие в данном исследовании.

Серологическое тестирование проводили методом иммуноферментного анализа (далее – ИФА) в отношении следующих маркеров: IgG к N белку (антигены вариантов Wuhan-Hu-1 и Omicron BA.1 в составе набора реагентов для выявления иммуноглобулинов G к коронавирусу SARS-CoV-2 методом иммуноферментного анализа «SARS-CoV-2-NP-ИФА-G» производства государственного учреждения «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», Республика Беларусь), IgG к РСД S белка SARS-CoV-2 (антигены варианта Delta: в составе набора реагентов для количественного определения IgG к рецептор-связывающему домену S белка SARS-CoV-2 методом иммуноферментного анализа «SARS-CoV-2-РСД-ИФА-QA-G» производства государственного учреждения «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», Республика Беларусь; «Elabscience», Китай) и Omicron BA.1 («Elabscience»; («FineTest», Китай)), IgG к S белку с использованием набора реагентов для количественного определения IgG к вирусу «SARS-CoV-2-IgG количественный-ИФА-БЕСТ» («Вектор-Бест», Россия). Установление количественных показателей IgG осуществляли в соответствии с инструкциями производителей коммерческих наборов реагентов. При использовании изолированных антигенов (РСД S белка вируса) аттестацию методики ИФА выполняли относительно Международного стандарта WHO International Standard 1st International Standard for antibodies to SARS-CoV-2 variants of concern 21/338 («NIBSC», Великобритания).

Установление индекса avidности (далее – ИА) IgG к S белку вируса проводили согласно Стандартной операционной процедуре «Определение avidности IgG к поверхностному гликопротеину S (spike) SARS-CoV-2, включая рецептор-связывающий домен RBD, методом иммуноферментного анализа» (разработчик «РНПЦ эпидемиологии и микробиологии» – в настоящем научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии, эпидемиологии, вирусологии и микробиологии государственного учреждения «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», Беларусь) по доле связанных антител в реакции диссоциации комплекса антиген-антитело хаотропным агентом. Образец считался содержащим IgG «низкой avidности» при ИА $\leq 30\%$, «высокой avidности» – при ИА $\geq 50\%$, «средней avidности» – при ИА 30–50 %.

Нейтрализующий титр антител (далее – НТА) к SARS-CoV-2 определяли в реакции нейтрализации вируса на культуре клеток Vero E6 с использованием штаммов, входящих в состав Республиканской

коллекции патогенных биологических агентов: штамм SARS-CoV-2/AY.122/2107, РКПБА-В-2021-414, относящийся к генетическому варианту В.1.617.2.122 (Delta+AY.122), и штамм SARS-CoV-2/2022/1984, РКПБА-В-2022-486, относящийся к генетическому варианту В.1.1.529.1 (Omicron BA.1). Признаки цитопатического эффекта оценивали на 5-е сутки после заражения клеток.

Титр сыворотки рассчитывали согласно формуле Кербера (1) по конечной точке нейтрализации (50 % нейтрализующего титра):

$$\log_2 50 \% \text{ нейтрализующего титра} = L - d(S - 0,5), \quad (1)$$

где L – \log_2 наибольшего разведения в опыте;

d – разница между \log_2 последовательных разведений;

S – сумма пропорций тест-объектов, давших положительный результат, т. е. культур с цитопатическим эффектом в каждом разведении.

Оценка нормальности распределения массива данных в группах исследования выполнялась с помощью критериев Колмогорова – Смирнова и Шапиро – Уилка ($\alpha = 0,05$). Анализ данных включал непараметрические статистические критерии: U-критерий Манна – Уитни; коэффициент ранговой корреляции Спирмена с установлением силы связи сравниваемых величин по шкале Чеддока. Доверительные интервалы долей определяли по методу Вальда. Достоверность обнаруживаемых различий оценивали, применяя критерий Хи-квадрат с поправкой Йейтса. Анализ данных выполняли с помощью программного обеспечения GraphPad Prism 9.5.1 («GraphPad Software», США; № лицензии GPS-1134662-UAZA-0B540).

Результаты и обсуждение. Сравнительное исследование по выявлению антиSARS-CoV-2 IgG к иммунодоминантным антигенам разных геновариантов вируса (пред-Omicron геноварианты I серотипа и Omicron геновариант II серотипа) в группах респондентов со сформированным первичным или вторичным иммунным ответом (рисунок 1) позволило установить, что независимо от геноварианта SARS-CoV-2, являющегося источником N белка, доля серопозитивных лиц к антигену разных геновариантов являлась идентичной и составила 91,3 % [79,1 %; 97,1 %] – в группе пациентов «COVID-19 Wuhan-Hu-1», 64,6 % [52,5 %; 75,2 %] – в группе пациентов «COVID-19 Omicron» и 84,8 % [71,5 %; 92,7 %] – в группе пациентов «Гибридный иммунитет». Принимая во внимание высокую консервативность N белка SARS-CoV-2, полученные данные о высокой кросс-реактивности антиN IgG являются ожидаемыми и подтверждают роль данного маркера как геновариант-независимого параметра серодиагностики COVID-19. Однако, несмотря на значимость антиN IgG в активации каскада механизмов клеточного иммунитета [9], они не способны нейтрализовать вирус, поэтому с начала пандемии COVID-19 основная роль в качестве маркера формирования гуморального противовирусного иммунитета отводилась антиS IgG и разработке коммерческих продуктов для их определения.

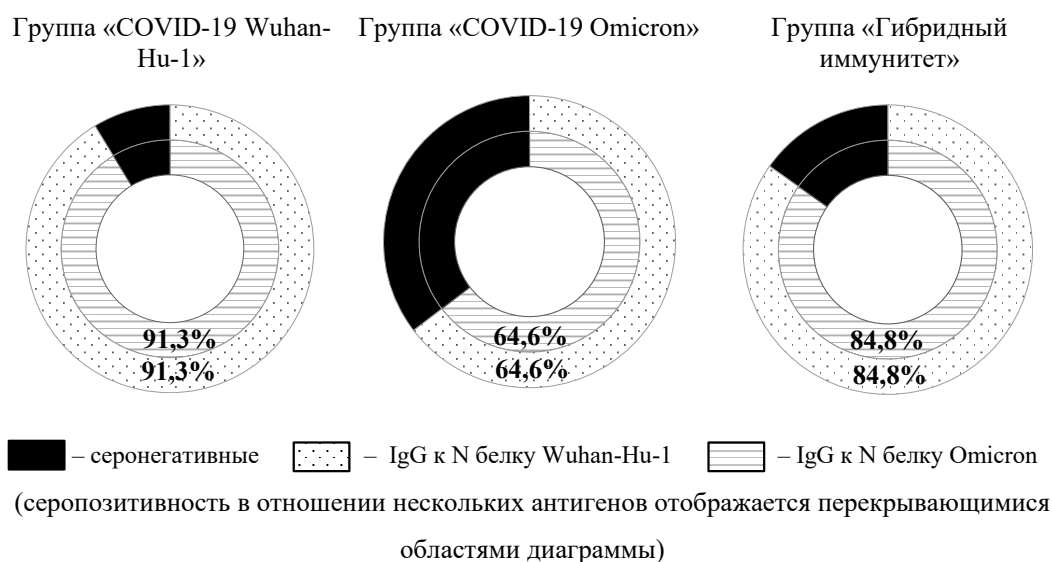


Рисунок 1 – Частота обнаружения IgG к N белку, источником которого являлись SARS-CoV-2 I и II серотипов, в группах лиц со сформированным иммунным ответом к разным геновариантам вируса

В отличие от данных, показанных по долевого распределению серопозитивных лиц к N белку разных геновариантов вируса, серостатус к S белку и его рецептор-связывающему домену отличался вариабельностью (рисунок 2). В группе «COVID-19 Wuhan-Hu-1» доля обнаружения IgG к S белку и его РСД I серотипа составила 100 % [90,8 %; 101,5 %] и 97,8 % [87,6 %; 100,7 %], соответственно. В то же время IgG, способные к образованию комплекса с РСД II серотипа, выявлялись только у 6,50 % [1,6 %; 18,2 %] пациентов с COVID-19 Wuhan-Hu-1-этиологии. Высокая степень различий в долях обнаруживаемых антител к S-основанным антигенам различных геновариантов вируса ($p < 0,001$) свидетельствовала о низкой кросс-реактивности антиРСД I серотипа IgG к антигену вируса II серотипа.

В группе «COVID-19 Omicron» доли детектируемых IgG в отношении S-основанных антигенов распределились следующим образом: 66,1 % [54,0 %; 76,5 %] – к S белку I серотипа, 49,2 % [37,5 %; 61,1 %] – к РСД I серотипа и 47,7 % [36,0 %; 59,6 %] – к РСД II серотипа. Тем не менее при сопоставимости установленных значений в общем объеме выборки IgG ко всем антигенам I и II серотипов обнаруживались только у 29,2 % [19,5 %; 41,3 %] при общем уровне серопревалентности 81,5 % [70,3 %; 89,3 %] ($p < 0,001$), а использование S белка I серотипа в качестве диагностического компонента не позволило выявить 15,4 % [8,4 %; 26,3 %] пациентов со сформированным гуморальным иммунным ответом в отношении геноварианта SARS-CoV-2 Omicron.

Учитывая предшествующие данные о низкой кросс-реактивности антиРСД I серотипа IgG в отношении РСД II серотипа, аналогичный результат ожидался и в отношении формирования комплекса антиРСД II серотипа IgG с антигеном I серотипа. Однако установленные показатели для представленной группы обследованных лиц не соответствовали прогнозируемым, что могло быть обусловлено как более высокой авидностью антиРСД II серотипа IgG, за счет чего происходило более эффективное связывание менее аффинного антигена пред-Omicron геновариантов вируса, чем соответствующего своему серотипу, так и ранее незафиксированным в анамнезе бессимптомным носительством.

В рамках исследования серопревалентности в группе респондентов, вирус-специфический иммунитет которых был сформирован в последствии многократного антигенного стимула, показано, что доля серопозитивных лиц к S белку I серотипа составила 95,7 % [84,7 %; 99,6 %], к РСД I серотипа – 91,3 % [81,9 %; 98,4 %] и к РСД II серотипа – 84,8% [71,5 %; 92,7 %].

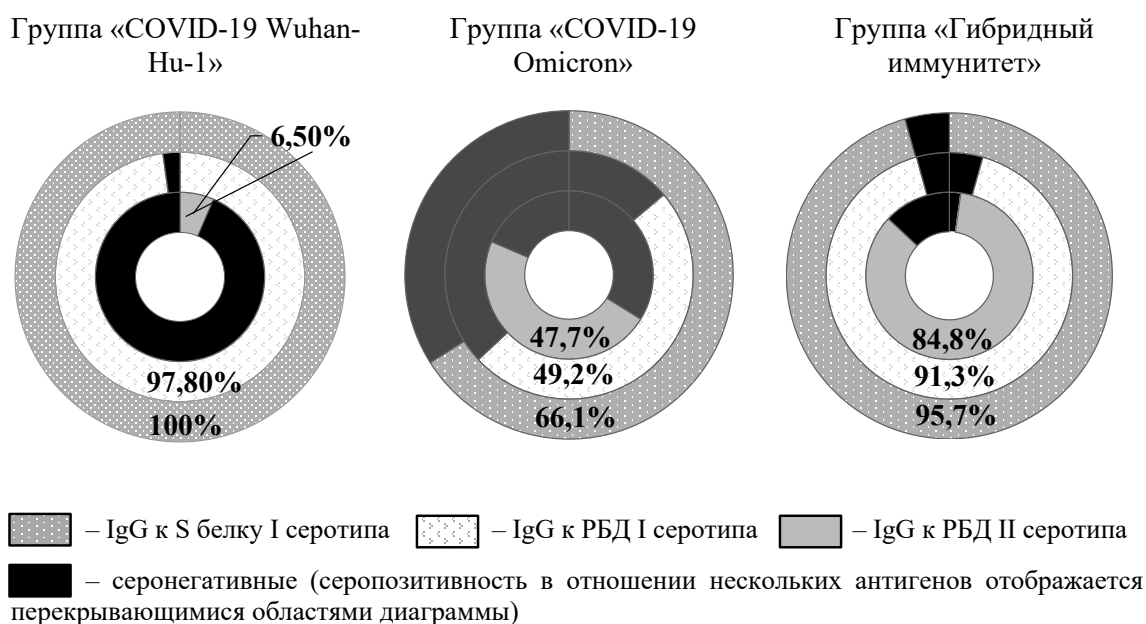


Рисунок 2 – Частота обнаружения IgG к S белку и его РСД разных серотипов в группах лиц со сформированным иммунным ответом к разным геновариантам SARS-CoV-2

При наиболее высоком показателе серопозитивности к S белку I серотипа во всех группах респондентов и, соответственно, более предпочтительном использовании данного маркера возникает

вопрос о диагностической значимости выявления IgG к антигенам не циркулирующих в настоящее время геновариантов вируса. В условиях константной адаптации SARS-CoV-2, учитывая низкую способность IgG, выработанных на пред-Omicron геноварианты связывать Omicron-специфический антиген, использование неактуальных диагностических маркеров может сформировать ложное представление о протективности иммунитета в отношении циркулирующих в настоящее время геновариантов SARS-CoV-2.

С возникновением геноварианта Omicron, а также его нисходящих линий одним из предметов дискуссий стал вопрос об объективности количественной оценки IgG к SARS-CoV-2. Принятая в настоящее время Международная стандартизация определения концентрации антиSARS-CoV-2 IgG не учитывает генотипическую дифференциацию вируса, что в последующем привело к невозможности адекватной гармонизации существующих средств серодиагностики COVID-19. Представленные в нашем исследовании данные (таблица 1), характеризующие силу связи между показателями серологических маркеров, устанавливают, что на фоне очень высокой связи ($r = 0,96$) между значениями показателя IgG к N белку I и II серотипов данный параметр лежит в пределах средних значений (0,52 и 0,57) коэффициента корреляции для сравниваемых значений пар IgG к S белку I серотипа-IgG к РБД II серотипа и IgG к РБД I серотипа-IgG к РБД II серотипа соответственно. При этом значение коэффициента корреляции между показателями концентрации IgG к S белку и его РСД I серотипа составило 0,88, что в совокупности позволяет нам судить о четкой серотипической дифференциации S белка SARS-CoV-2.

Таблица 1 – Корреляционный анализ количественных показателей серологических маркеров COVID-19 (коэффициент ранговой корреляции Спирмена)

Серологический маркер COVID-19	IgG к S белку I серотипа	IgG к РБД I серотипа	IgG к РБД II серотипа	IgG к N белку I серотипа	IgG к N белку II серотипа
IgG к N белку II серотипа	0,65	0,65	0,38	0,96	1
IgG к N белку I серотипа	0,62	0,60	0,32	1	0,96
IgG к РБД II серотипа	0,52	0,57	1	0,32	0,38
IgG к РБД I серотипа	0,88	1	0,57	0,60	0,65
IgG к S белку I серотипа	1	0,88	0,52	0,62	0,65

Таким образом, изменчивость вируса, обусловленная в первую очередь изменением аминокислотного состава его S белка, указывает на целесообразность своевременной адаптации диагностических тестов, основанных на определении антиS SARS-CoV-2 IgG.

Тем не менее значения показателей серологических маркеров, полученные в ИФА, не позволяют заявить о протективности иммунного ответа к SARS-CoV-2, поэтому возможность обеспечения выработанными IgG защитных свойств к вирусу оценивалась по отношению к нейтрализующему титру антител (далее – НТА) и длительности периода, в течение которого не регистрировался симптоматический COVID-19 (таблица 2). Республика Беларусь является одной из немногих в мире и единственной в Европе страной, где не были введены ограничительные меры по перемещению людей во время пандемической заболеваемости COVID-19. В связи с этим территорию нашей страны можно рассматривать безбарьерной для распространения SARS-CoV-2. Данный фактор позволил нам определить «безопасный» в отношении COVID-19 период, в течение которого у лица со сформированным вирус-специфическим иммунным ответом и подтвержденным серостатусом не регистрировался симптоматический эпизод заболевания, а момент завершения данного периода фиксировался ПЦР-подтверждением COVID-19 с определением этиологического агента (геноварианта).

Таблица 2 – Корреляционный анализ количественных показателей серологических маркеров, установленных в ИФА, с титром нейтрализующих сывороточных антител и длительностью «безопасного» периода в отношении COVID-19

Серологический маркер	Группа «COVID-19 Wuhan-Hu-1»				Группа «COVID-19 Omicron»	
	HTA к Delta (n = 27)	дни «безопасного» периода пред-Omicron (n = 59)	HTA к Omicron (n = 27)	дни «безопасного» Omicron (n = 22)	HTA к Delta (n = 20)	HTA к Omicron (n = 20)
антиS IgG, BAU/ml	0,71	0,50	0,42	0,19	0,86	0,62
ИА, % антиS IgG	0,69	0,78	0,38	0,22	0,85	0,61
антиS IgG, BAU/ml+ИА, % антиS IgG	0,74	0,72	0,43	0,21	0,89	0,64
антиPCД I IgG	0,80	–	0,48	–	0,82	0,67
антиPCД II IgG	0,46	–	0,66	–	0,54	0,80

В группе реконвалесцентов COVID-19 пред-Omicron этиологии, которые в последующем перенесли COVID-19, ассоциированный с пред-Omicron геновариантами SARS-CoV-2, медианные показатели соответствовали следующим значениям: длительность «безопасного» периода – 91 день, концентрация антиS IgG – 501 BAU/ml, ИА – 41 %, концентрация антиS IgG с учетом их авидности – 215 BAU/ml.

В группе переболевших COVID-19 пред-Omicron этиологии, которые в последующем перенесли COVID-19, обусловленный Omicron геновариантами вируса, медианные показатели распределились следующим образом: длительность «безопасного» периода – 124 дня, концентрация антиS IgG – 493 BAU/ml, ИА – 51 %, концентрация антиS IgG с учетом их авидности – 189 BAU/ml.

При отсутствии значимых различий между значениями показателей исследованных маркеров двух групп, величина коэффициента корреляции между длительностью «безопасного» периода и показателями серологических маркеров в группе, ассоциированной с заболеванием только COVID-19 пред-Omicron этиологии, варьировала в пределах 0,5–0,78, во второй группе – в пределах 0,19–0,22.

Совокупное определение концентрации IgG и индекса их авидности с высокой долей вероятности позволило судить о протективности сформированного иммунного ответа в отношении SARS-CoV-2, относящегося к тому же серотипу. Показатель концентрации антиS IgG в качестве единственного маркера протективности гуморального иммунитета имел среднюю степень корреляции ($r = 0,50$) с фактической длительностью «безопасного» периода, что подтверждает роль авидности в качестве серологического маркера оценки защитного гуморального противовирусного иммунитета. Однако установленная слабая сила связи ($r = 0,22$) между изученными показателями в группе, заболеваемость в которой ассоциирована с геновариантами вируса разных серотипов, в очередной раз свидетельствовала о необходимости осуществления вариант-зависимой серодиагностики COVID-19.

В рамках исследования нейтрализующих свойств противовирусных антител (далее – АТ) установлено, что медианы титров сывороточных антиS I серотипа АТ, нейтрализующих геноварианты Delta и Omicron, составили 1 : 64 и 1 : 6, соответственно ($p < 0,001$), медианы антиS II серотипа АТ – 1 : 32 и 1 : 16 при нейтрализации геновариантов Delta и Omicron ($p = 0,34$). Полученные данные свидетельствовали о низкой кросс-реактивности антиS I серотипа IgG в отношении геноварианта Omicron, в то же время достоверный вывод о высокой кросс-нейтрализующей способности антиS II серотипа АТ в отношении геноварианта Delta не представлялся возможным в связи с потенциальным бессимптомным носительством у пациентов группы «COVID-19 Omicron», не зарегистрированного ранее. Принимая во внимание цель данного исследования, стоит отметить, что при оценке сопоставимости титров нейтрализующих АТ с показателями серологических маркеров, установленных в ИФА, наиболее высокие значения коэффициентов корреляции регистрировались в парах сравниваемых показателей, относящихся к одному серотипу вируса.

Заключение. Представленные результаты по изучению кросс-реактивности, кросс-нейтрализующих свойств вирус-специфических и их авидности к пред-Omicron и Omicron геновариантам SARS-CoV-2 указывают на необходимость своевременной адаптации коммерческих наборов для диагностики COVID-19. Анализ результативности серодиагностики COVID-19 в рамках оценки гуморального иммунного ответа к SARS-CoV-2 выявил высокую значимость серотипической дифференциации при обнаружении антиS IgG, в то время обнаружение антиN IgG имело вариант-независимый характер. Определение диагностической значимости исследованных серологических маркеров внутри одного серотипа позволило обосновать необходимость изучения авидности противовирусных АТ при оценке

их протективности. Учитывая сохраняющуюся и в постпандемический период актуальность исследований по изучению иммунного ответа к SARS-CoV-2, для обеспечения адекватной серодиагностики COVID-19 целесообразно учитывать несколько параметров: концентрацию, avidность и вируснейтрализующую активность противовирусных антител с учетом текущей серотипической дифференциации геновариантов вируса.

Сведения о НИР. НИР «Разработать технологию получения рекомбинантного рецептор-связывающего домена (RBD) коронавируса SARS-CoV-2 и создать на его основе набор реагентов для количественного определения IgG к SARS-CoV-2, освоить производство», регистрационный номер 20221487.

Литература

1. National influenza and COVID-19 surveillance report: week 39 report (up to week 38 2024 data) / UK Health Secur. Agency. – 14 p. – URL: https://assets.publishing.service.gov.uk/media/66f525f0a31f45a9c765ec5c/Weekly_flu_and_COVID-19_report_w39.pdf (date of access: 10.10.2024).

2. Liu, Z. Receptor-binding domain-associated serotypes of SARS-CoV-2 / Z. Liu, L. Lu, S. Jiang // *Emerging Microbes & Infections*. – 2024. – Vol. 13, № 1. – DOI: 10.1080/22221751.2024.2309968.

3. COVID-NET. Interactive dashboard. – URL: <https://www.cdc.gov/covid/php/covid-net/index.html> (date of access: 10.08.2024).

4. Antigenicity and infectivity characterisation of SARS-CoV-2 BA.2.86 / S. Yang, Y. Yu, F. Jian [et al.] // *The Lancet. Infectious Diseases*. – 2023. – Vol. 23, № 11 – P. e457–e459. – DOI: 10.1016/S1473-3099(23)00573-X.

5. The omicron BA.2.86 subvariant as a new serotype of SARS-CoV-2 / P. Du, C. Wu, S. Hu [et al.] // *The Lancet. Microbe*. – 2024. – Vol. 5, № 6. – DOI: 10.1016/S2666-5247(23)00411-1.

6. Binding of human ACE2 and RBD of Omicron enhanced by unique interaction patterns among SARS-CoV-2 variants of concern / S. Kim, Y. Liu, M. Ziarnik [et al.] // *Journal of Computational Chemistry*. – 2023. – Vol. 44, № 4. – P. 594–601.

7. Comparative analysis of eleven SARS-CoV-2 immunoassays and neutralisation data: time to enhance standardization and correlation of protection / J. J. Cabrera-Alvargonzalez, C. Davina-Nunez, S. Rey-Cao [et al.] // *Infectious Diseases (London)*. – 2024. – P. 1–13. – DOI: 10.1080/23744235.2024.2382263.

8. Correlation analysis of anti-SARS-CoV-2 RBD IgG and neutralizing antibody against SARS-CoV-2 omicron variants after vaccination / N. Takheaw, C. Liwsrisakun, W. Chaiwong [et al.] // *Diagnostics (Basel)*. – 2022 – Vol. 12, № 6. – DOI: 10.3390/diagnostics12061315.

9. Viral nucleoprotein antibodies activate TRIM21 and induce T cell immunity / S. L. Caddy, M. Vaysburd, G. Papa [et al.] // *The EMBO Journal*. – 2021. – Vol. 40, № 5. – DOI: 10.15252/embj.2020106228.

Belskaya I. V., Amvrosieva T. V., Bohush Z. F., Paklonskaya N. V., Semenov S. F., Klimovich O. V.

ANALYSIS OF SEROLOGICAL MARKERS RELIABILITY IN ASSESSMENT OF HUMORAL IMMUNITY AGAINST SARS-CoV-2 IN THE CONDITIONS OF THE EPIDEMIC PROCESS DEVELOPMENT IN THE REPUBLIC OF BELARUS

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

The patterns established the study are based on the study of cross-reactivity, cross-neutralizing properties of virus-specific antibodies and their avidity, developed on pre-Omicron and Omicron genovariants of SARS-CoV-2. The results revealed a variant-independent nature of the anti-N IgG determination, while the possibility of anti-S IgG detecting had a pronounced dependence on the virus serotype, which is confirmed at the level of qualitative and quantitative serological analysis, as well as in the neutralization assay. The importance of the antiviral antibodies avidity in assessment of IgG protective effect against viruses of the same serotype is confirmed. The results indicate that in order to ensure adequate serodiagnosis of COVID-19 in the post-pandemic period against the background of regular changes in the dominant genovariants of the pathogen, it is advisable to take into account several parameters: concentration, avidity and virus-neutralizing activity of antiviral antibodies, taking into account the current sero- and genotypic differentiation of SARS-CoV-2.

Keywords: SARS-CoV-2, humoral immunity, IgG cross-reactivity, immune response protection, virus neutralization, antibody avidity.

References

1. National influenza and COVID-19 surveillance report: Week 39 report (up to week 38 2024 data). UK Health Security Agency. Available at: https://assets.publishing.service.gov.uk/media/66f525f0a31f45a9c765ec5c/Weekly_flu_and_COVID-19_report_w39.pdf (accessed 10 October 2024).

2. Liu Z., Lu L., Jiang S. Receptor-binding domain-associated serotypes of SARS-CoV-2. *Emerg Microbes Infect.* 2024; 13(1). DOI: 10.1080/22221751.2024.2309968.

3. COVID-NET. Interactive dashboard. Available at: <https://www.cdc.gov/covid/php/covid-net/index.html> (accessed 10 August 2024).

4. Yang S., Yu Y., Jian F. et al. Antigenicity and infectivity characterisation of SARS-CoV-2 BA.2.86. *Lancet Infect Dis.* 2023; 23(11): e457–9.

5. Du P., Wu C., Hu S. et al. The omicron BA.2.86 subvariant as a new serotype of SARS-CoV-2. *Lancet Microbe.* 2024; 5(6). DOI: 10.1016/S2666-5247(23)00411-1.

6. Kim S., Liu Y., Ziarnik M. et al. Binding of human ACE2 and RBD of Omicron enhanced by unique interaction patterns among SARS-CoV-2 variants of concern. *J Comput Chem.* 2023; 44(4): 594–601.

7. Cabrera-Alvargonzalez J. J., Davina-Nunez C., Rey-Cao S. et al. Comparative analysis of eleven SARS-CoV-2 immunoassays and neutralization data: Time to enhance standardizations and correlation of protection. *Infect Dis. (Lond).* 2024; 1–13. DOI: 10.1080/23744235.2024.2382263.

8. Takheaw N., Liwsrisakun C., Chaiwong W. et al. Correlation analysis of anti-SARS-CoV-2 RBD IgG and neutralizing antibody against SARS-CoV-2 omicron variants after vaccination. *Diagnostics (Basel).* 2022; 12(6). DOI: 10.3390/diagnostics12061315.

9. Caddy S. L., Vaysburd M., Papa G. et al. Viral nucleoprotein antibodies activate TRIM21 and induce T cell immunity. *EMBO J.* 2021; 40(5). DOI: 10.15252/emboj.2020106228.

e-mail для переписки: v.inna.belskaya@gmail.com

Поступила 10.10.2024

УДК 616.98-022:578.834.1SARS-CoV-2:578.522.5

Булда К. Ю., Коско А. Д., Бунас А. С., Гасич Е. Л.

ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА SARS-COV-2 С ЦЕЛЬЮ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВАРИАНТОВ ОМИКРОН И ЕГО РЕКОМБИНАНТНЫХ ФОРМ

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии
и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Растущее число случаев COVID-19 в конце 2021 г. вызвало необходимость проведения исследований по генотипированию SARS-CoV-2. Используя метод определения однонуклеотидных полиморфизмов, установлены основные циркулирующие варианты – BA.1 и BA.2 и единичные случаи варианта Дельта. С помощью частичного секвенирования S-участка удалось установить присутствие варианта BA.1.1 в образцах, идентифицированных как BA.1, при помощи полногеномного секвенирования удалось идентифицировать вариант BA.1.15. Методы частичного секвенирования S-гена и полногеномного секвенирования показали высокую эффективность при идентификации рекомбинантных форм Омикрона: XBB.1, XBB.1.5, XBB.1.9, XBB.1.37.1 и XBB.2.1. Использование различных методов молекулярно-эпидемиологического мониторинга вариантов вируса SARS-CoV-2 в разные периоды времени позволяет получить информацию о его распространении на территории Республики Беларусь.

Ключевые слова: коронавирус, мутации, секвенирование, рекомбинантные формы.

Введение. В течение более трех лет длилась пандемия COVID-19, вызванная коронавирусом SARS-CoV-2 и приведшая к серьезным последствиям для здравоохранения. В конце августа 2024 г. во всем мире было зарегистрировано более 676 млн случаев COVID-19, из них около 7 млн с летальным исходом [1]. В мае 2021 г. Всемирной организацией здравоохранения (далее – ВОЗ) была введена классификация для вариантов, обладающих высокой трансмиссивностью, патогенностью и вызывающих более тяжелое течение заболевания, которые получили название «варианты, вызывающие беспокойство». В случае, если вариант еще не имел широкого распространения, то он классифицировался как «вариант, вызывающий интерес» или «вариант, находящийся под наблюдением» [2]. К «вариантам, вызывающим беспокойство» относятся Альфа, Бета, Дельта, Омикрон и другие. Вариант Омикрон, в отличие от предыдущих вариантов, содержит большое количество мутаций в своем геноме.

Вариант Омикрон (B.1.1.529), впервые выявленный в ноябре 2021 г., был представлен несколькими доминирующими сублиниями и их рекомбинантными формами – BF.7, BA.2, BA.2.75, BQ.1 и XBB. В геноме вируса, кодирующего S-участок белка, появились аминокислотные замены в R346, K444, L452, N460 и F486. Эти замены облегчили вирусу SARS-CoV-2 процессы проникновения в клетки, связывания с рецептором ACE2 человека и уклонения от противовирусного гуморального иммунитета, индуцированного вакцинацией и/или заболеванием, вызванным ранее циркулирующим вариантом.

Рекомбинантная форма XBB является первым наблюдаемым вариантом вируса SARS-CoV-2, который повышает свою приспособленность не за счет замен, а за счет рекомбинации. Согласно результатам филогенетического анализа предполагается, что вариант XBB возник в результате рекомбинации между двумя одновременно циркулирующими летом 2022 г. линиями Омикрона BJ.1 (BA.2.10.1.1) и BM.1.1.1 (BA.2.75.3.1.1.1). Вариант XBB содержит в S-участке замены R346T, N460K и F486S. Было показано, что геном XBB идентичен BJ.1 с начала до позиции 22 942 п. н., а BM.1 – с 22 896 п. н. до конца генома. Рекомбинантный анализ позволил предположить, что точка рекомбинации находится между позициями 22 897 и 22 941 в рецептор-связывающем домене S-белка (что соответствует аминокислотным позициям 445–460).

Вариант XBB и его сублинии, такие как XBB.1 и XBB.1.5 (Кракен), играли значительную роль в подъеме заболеваемости в 2023 г. Вариант XBB.1 содержит дополнительную мутацию (G252V) по сравнению с XBB. Установлено, что рекомбинантный вариант XBB.1.5 имеет одну дополнительную мутацию – F486P, редко встречающееся аминокислотное изменение в S-белке в сравнении с XBB.1. На фоне преобладания варианта XBB.1.5 широкое распространение получили и новые рекомбинантные варианты XBB.1.16 (Арктур), XBB.1.9, XBB.2.3 и другие рекомбинантные формы [3]. С осени 2020 г. повсеместно было начато секвенирование геномов вируса SARS-CoV-2, результаты которого позволили установить особенности распространения вируса. С начала пандемии было депонировано около 25 000 000 вирусных геномов в базах данных GISAID и GenBank [4].

Для полной идентификации варианта вируса SARS-CoV-2 необходимо секвенировать его полный геном или участок S-гена, в котором находятся замены, характерные для отдельных вариантов. В связи с высокой длительностью, трудоемкостью и стоимостью исследований полногеномного секвенирования может быть более целесообразным частичное секвенирование S-гена по Сэнгеру.

В то же время технологии высокопроизводительного секвенирования незаменимы для получения точных данных о новых вариантах SARS-CoV-2 и особенностях их распространения. Наиболее широко используются следующие системы высокопроизводительного секвенирования – Illumina (США) и Oxford Nanopore Technologies (Великобритания). Секвенирование с использованием систем Illumina имеет ряд преимуществ: высокая производительность, пропускная способность, меньшее количество ошибок на 1 нуклеотид. Одним из основных недостатков является длительное время выполнения анализа и его стоимость. Напротив, система Oxford Nanopore Technologies (ONT) позволяет анализировать достаточно длинные фрагменты с относительно низкой стоимостью, но при этом качество прочтений значительно хуже. Для полногеномного секвенирования SARS-CoV-2 используются следующие методы приготовления библиотек: метод перекрывающихся ампликонов либо фрагментирование последовательности ферментами или ультразвуком. Ввиду небольшого размера генома вируса SARS-CoV-2 (порядка 30 000 нуклеотидов) предпочтительно использовать для приготовления библиотек амплифицированные пулы участков, перекрывающих друг друга.

Альтернативным решением, позволяющим получить большой массив данных в короткие сроки, может быть определение однонуклеотидных полиморфизмов, характерных для отдельных вариантов вируса SARS-CoV-2, методом ПЦР-анализа в режиме «реального времени». Этот подход может быть использован и в случае отсутствия возможности массового проведения массовых геномных исследований. Однако важным ограничением является необходимость актуализации используемых праймеров для такого надзора. Следовательно, выбор метода зависит от возможностей конкретной лаборатории, объема исследований и генетического разнообразия циркулирующих вариантов.

Цель работы – оптимизировать методы молекулярно-генетического мониторинга вируса SARS-CoV-2 для определения сублинии варианта Омикрон и его рекомбинантных форм на территории Республики Беларусь для повышения эффективности эпидемиологического надзора.

Материалы и методы. Исследовано 384 назофарингеальных мазка, полученных от пациентов с подтвержденным COVID-19 в период с 22 января по 3 февраля 2022 г. Образцы были получены из Брестской, Витебской, Гомельской, Гродненской и Могилевской областей – по 48 ((12,5 ± 1,7) %), Минской области – 35 ((9,1 ± 1,5) %) и из г. Минска – 109 ((28,4 ± 2,3) %). Распределение по полу было

следующим: 236 образцов ($(61,5 \pm 2,5)$ %) принадлежали женщинам и 148 ($(38,5 \pm 2,5)$ %) – мужчинам. Образцы исследованы тремя методами: частичным секвенированием S-гена, полногеномным секвенированием и методом определения однонуклеотидных полиморфизмов для обоснования возможности использования последнего для генотипирования.

Экстракция РНК вируса SARS-CoV-2 из клинического материала производилась с использованием набора для выделения РНК/ДНК из клинического материала «АртРНК Магнит» (ООО «АртБиоТех», Беларусь) методом сорбции на магнитных частицах.

Реакция обратной транскрипции РНК вируса SARS-CoV-2 производилась со смесью случайных гексамеров с помощью реагентов «ArtMMLV ревертаза» (ООО «АртБиоТех», Беларусь), температурные и временные параметры: 25 °С – 10 мин, 54 °С – 40 мин, 85 °С – 5 мин, 4 °С – хранение. Полученная кДНК вируса SARS-CoV-2 использовалась для проведения полимеразной цепной реакции в режиме «реального времени» с помощью «ArtMix ДНК-полимераза» (ООО «АртБиоТех», Беларусь) на амплификаторе «CFX96 Touch Real-Time PCR» (Bio-Rad, США). Для выявления однонуклеотидных полиморфизмов в области S-гена (делеции 69/70 и замены N501Y) использовались праймеры, приведенные в статье [5]. Детекция делеции 69/70 и замены N501Y проводилась с помощью ПЦР в режиме «реального времени» со следующим температурным и временным режимом: 95 °С – 2 мин, 95 °С – 10 сек, 55 °С – 30 сек (40 циклов с детекцией по каналам: FAM, ROX, HEX, Cy-5).

Частичное секвенирование S-гена вируса SARS-CoV-2 производилось для образцов с высокой вирусной нагрузкой, которая определялась значением $St < 25$. Для таких образцов производилась реакция обратной транскрипции с последующей ПЦР, используя прямой праймер (CCTTCACTGTAGAAAAAGGAATC, 22476 п. н.) и обратный праймер (CATATGAGTTGTTGACATGTTTCAG, 23543 п. н.). ПЦР проводилась с использованием «ArtStart ДНК-полимераза» (ООО «АртБиоТех», Беларусь) на амплификаторе Veriti 96-Well Thermal Cycler (Applied Biosystems, США). Температурный и временной режим проведения ПЦР: 95 °С – 2 мин, 95 °С – 10 сек, 55 °С – 10 сек, 72 °С – 1 мин 10 сек (35 циклов), 72 °С – 5 мин, 4 °С – хранение. Амплифицированные фрагменты ДНК анализировались методом электрофореза в 1,7 % агарозном геле. Целевой продукт очищался от остатков праймеров и дНТФ набором для ферментной очистки ExS-Pure Enzymatic PCR Purification Kit (Nimagen, Нидерланды). Секвенирующая ПЦР проводилась с использованием 2 мМ прямого и обратного праймеров к участку S-гена вируса SARS-CoV-2 набором BrilliantDye Terminator (v3.1) Cycle Sequencing Kit (Nimagen, Нидерланды). После ПЦР образцы очищались методом, основанным на спиртовой преципитации. Электрофорез очищенных фрагментов проводился на генетическом анализаторе 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США).

Полногеномное секвенирование последовательностей вируса SARS-CoV-2 начиналось с реакции обратной транскрипции с использованием реагентов LunaScript RT SuperMix Kit (New England Biolabs, США) на приборе Veriti 96-Well Thermal Cycler (Applied Biosystems, США) и проводилось со следующими временными и температурными режимами: 25 °С – 2 мин, 55 °С – 20 мин, 95 °С – 1 мин, 4 °С – хранение. ПЦР-амплификация выполнялась с двумя пулами праймеров: пул № 1; пул № 2 согласно протоколу ARTIC V4.1 и реакционной смесью для ПЦР с Flash-полимеразой (ООО «АртБиоТех», Беларусь). Временной и температурный режим: 98 °С – 30 сек, 98 °С – 10 сек, 63 °С – 5 мин (32 цикла). Для подготовки библиотек использовались реагенты NEBNext Ultra II DNA Library Prep Kit for Illumina, индексы NEBNext Multiplex Oligos for Illumina (New England Biolabs, США) и магнитные частицы для очистки библиотек AMPure XP (Beckman Coulter Life Sciences, Германия). Полногеномное секвенирование выполнялось на приборе MiSeq (Illumina США) с комплектом реагентов kit V3 на 600 циклов (Illumina США).

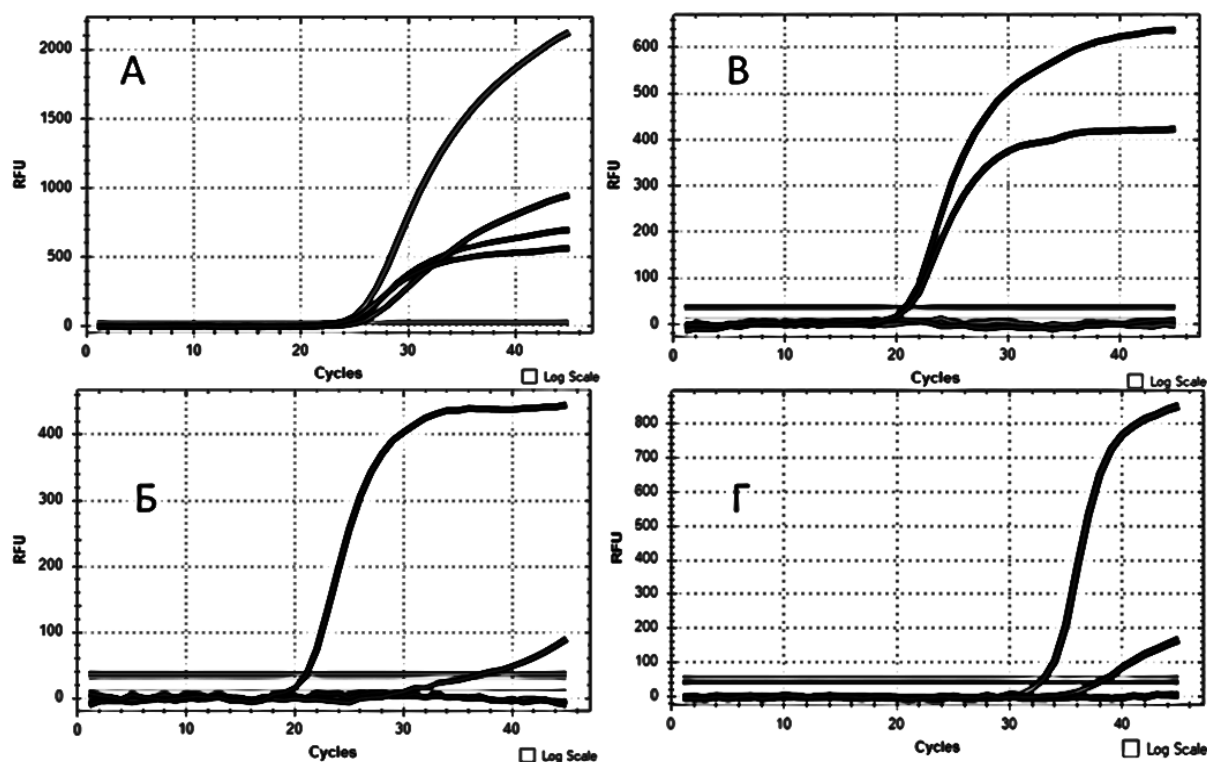
Полученные последовательности загружались на электронный ресурс <https://gisaid.org/database-features/covsurver-mutations-app/> для определения имеющихся уникальных аминокислотных замен, соответствующим генетическим вариантам SARS-CoV-2.

Описанные выше методики секвенирования, за исключением определения однонуклеотидных полиморфизмов, использовались для идентификации рекомбинантных форм вируса SARS-CoV-2, циркулирующих на территории страны в конце 2022–2023 гг. Для поиска рекомбинантных форм варианта Омикрон была сформирована выборка образцов ($n = 77$), полученных в период с октября 2022 г. по апрель 2023 г. Пробы были получены из Брестской ($n = 3$; $(3,9 \pm 2,2)$ %), Витебской ($n = 8$; $(10,4 \pm 3,5)$ %), Гомельской ($n = 13$; $(16,9 \pm 4,3)$ %), Гродненской ($n = 9$; $(11,7 \pm 3,7)$ %), Могилевской ($n = 5$; $(6,5 \pm 2,8)$ %), Минской ($n = 9$; $(11,7 \pm 3,7)$ %) областей и от 30 лиц ($39 \pm 5,6$ %), проживающих в Минске. Среди них 48 образцов ($(62,3 \pm 5,5)$ %) получено от лиц женского пола и 29 ($37,7 \pm 5,5$ %) – мужского.

Результаты и их обсуждение. Увеличение количества случаев COVID-19 в конце 2021 – начале 2022 гг. вызвало необходимость проведения большого объема исследований для генотипирования

SARS-CoV-2 для понимания эпидемиологического потенциала и клинического значения циркулирующих вариантов вируса.

С целью генотипирования был разработан метод выявления однонуклеотидных полиморфизмов, результаты которого позволили определить принадлежность исследуемых образцов к вариантам Дельта, Омикрон сублиний ВА.1 и ВА.2. Праймеры и гибридационные зонды формата TaqMan были подобраны к трем диагностическим мишеням: отсутствие делеции 69/70 (канал HEX) и аминокислотной замены N501Y (канал ROX), наличие/отсутствие по участку N-гена РНК вируса SARS-CoV-2 (канал FAM), эндогенный контроль (канал Cy5). Интерпретация результатов осуществлялась на основе анализа характерных изменений в геноме вируса: наличия/отсутствия делеции 69/70 и мутации N501Y. При отсутствии делеции 69/70 (канал HEX) и мутации N501Y (канал ROX), наличие N-белка SARS-CoV-2 (канал FAM) и эндогенного контроля (канал Cy5) происходит подъем уровня флуоресценции на графике. На рисунке 1 представлены примеры графиков, на основании анализа которых определяли генетический вариант вируса SARS-CoV-2. Так как в последовательности, кодирующей S-участок в геноме варианта Дельта, отсутствует делеция 69/70 и мутация N501Y, подъем кривых флуоресценции регистрировали по всем каналам FAM, HEX, ROX и Cy5 (рисунок 1А). Для варианта ВА.1 характерно наличие делеции 69/70 и замена N501Y, следовательно, наблюдается подъем кривых флуоресценции только по каналу FAM (рисунок 1Б). В случае высокой концентрации вируса подъем кривой флуоресценции по каналу Cy5 может не регистрироваться. Для варианта ВА.2 характерно отсутствие делеции 69/70 и наличие замены N501Y, следовательно, наблюдается подъем кривых флуоресценции по каналам FAM и HEX (рисунок 1В). Образцы со значением порогового цикла амплификации более 32 либо в случае отсутствия пересечения пороговой линии по каналу FAM считались отрицательными (рисунок 1Г).



А – V.1.617.2 (Дельта); Б – линия ВА.1; В – линия ВА.2; Г – отрицательный.

Рисунок 1 – Кривые роста флуоресценции по каналу ROX, FAM, HEX, Cy5, соответствующие вариантам Дельта, и Омикрон (линии ВА.1 и ВА.2) вируса SARS-CoV-2

Для 17 исследуемых образцов ($(4,4 \pm 1,0)$ %) значение порогового цикла при пересечении экспоненциальной кривой по каналу FAM было более 32 или не отмечалось пересечение пороговой линии, в связи с чем их исключили из дальнейшего анализа.

Согласно полученным данным, 37 ($(9,6 \pm 1,5)$ %) исследованных образцов принадлежало к варианту Дельта, 82 ($(21,4 \pm 2,3)$ %) – к линии ВА.2. Вариант ВА.2 выявлен во всех регионах Республики Беларусь, в Гомельской области его доля составляла $(47,6 \pm 2,2)$ % ($n = 39$).

В начале 2022 г. произошла стремительная замена ранее циркулирующего варианта Дельта на вариант Омикрон. В целом представленность варианта Дельта в этот период времени была низкой в Республике Беларусь. В 248 образцах ((64,6 ± 2,4) %) по результатам анализа были выявлены вирусы, содержащие делецию 69/70 и аминокислотную замену N501Y в участке S-гена, что указывало на присутствие в них варианта BA.1. Этот вариант получил широкое распространение в целом в стране, в г. Минске доля этого варианта была наиболее высокой – (35,5 ± 3,0) % (n = 88).

В целом в течение периода 22.01.2022–03.02.2022 была установлена преимущественная принадлежность вируса SARS-CoV-2 к линиям варианта Омикрон BA.1 и BA.2, и только единичные случаи заражения были вызваны вариантом Дельта – V.1.617.2 и его сублиниями V.1.617.2 + AY. В течение короткого промежутка времени появились данные о возникновении дополнительной уникальной аминокислотной замены R346K в S-участке генома варианта BA.1 и появлении сублинии BA.1.1. Для идентификации вариантов на территорию страны из исследуемой выборки были отобраны 84 образца с высокими вирусными нагрузками, тестирование которых проводилось методом определения однонуклеотидных полиморфизмов. Со всеми образцами выполнено частичное секвенирование S-участка генома вируса SARS-CoV-2, определена их принадлежность к генетическим вариантам. Полученные результаты показали, что из 53 образцов, которые по результатам ПЦР в режиме «реального времени» содержали вирус варианта BA.1, только в 17 ((32,1 ± 6,4) %) был обнаружен данный вариант SARS-CoV-2, тогда как в 36 образцах ((67,9 ± 2,2) %) вирус имел аминокислотную замену R346K, характерную для сублинии BA.1.1, а в 31 образце – аминокислотные замены, характерные для BA.2.

Золотым стандартом, позволяющим точно определить генетический вариант вируса, является анализ полного генома. В связи с чем проведено полногеномное секвенирование 5 случайно выбранных образцов из выборки с известными результатами вариантов, относящихся к вариантам BA.1 (SARS-CoV-2VIS16883), BA1.1 (SARS-CoV-2VIS16517), BA.2 (SARS-CoV-2VIS16245, SARS-CoV-2VIS16525, SARS-CoV-2VIS16910), полученных методом частичного секвенирования S гена.

Результаты секвенирования и последующего биоинформационного анализа позволили сделать следующие выводы. Образцы вируса SARS-CoV-2VIS16245, полученный 31.01.2022 из г. Минска, SARS-CoV-2VIS16525 от 27.01.2022 из Гродненской области и SARS-CoV-2VIS16910 от 26.01.2022 из Витебской области принадлежали к варианту BA.2, который был впервые обнаружен и начал свое распространение на территории Республики Беларусь с конца января 2022 г. Образец вируса SARS-CoV-2VIS16517, полученный 28.01.2022 из Гродненской области, принадлежал к варианту BA.1.1, первое появление которого на территории Республики Беларусь зафиксировано в первые недели января 2022 г. Образец вируса SARS-CoV-2VIS16883 из Столбцов (Минская область) был получен 30.01.2022 и по результатам частичного секвенирования S-участка генома относился к варианту BA.1, однако по результатам полногеномного секвенирования он относится к сублинии варианта BA.1.15, который отличается наличием мутаций в участке ORF3a – L106F и N участке – D343G.

Впервые о рекомбинантных формах вируса SARS-CoV-2 было сообщено в 2021 г. В ходе проведения молекулярно-эпидемиологического слежения за циркулирующими генетическими вариантами впервые на территории страны были выявлены сублинии варианта Омикрон и его рекомбинантные формы. Анализ данных сравнения 77 образцов вируса, полученных в период с октября 2022 г. по апрель 2023 г., основанных на результатах частичного секвенирования S-участка генома и полногеномной последовательности вируса, показал высокий процент идентичности полученных данных. Так, в 55 ((71,4 ± 5,1) %) из 77 случаев принадлежность к генетическим сублиниям варианта Омикрон совпадала. Среди циркулирующих вариантов были представлены как сублинии варианта Омикрон BA.5 – BA.5.1.X (n = 6), BA.5.2.X (n = 21), BA.5.3.X (n = 5); сублинии варианта Омикрон BA.2.75.X (n = 19), так и рекомбинантные формы ХВВ – ХВВ.1 (n = 3), ХВВ.1.5 (n = 9), ХВВ.1.9 (n = 12), в единичных случаях ХВВ.1.37.1 и ХВВ.2.1.

При интерпретации данных частичного секвенирования S-участка вариант BF.7 (BA.5.2.17) ошибочно был отнесен к линии BA.4.6 ввиду неполного покрытия всего S-участка и отсутствия региона, несущего характерную аминокислотную замену N658S. Еще в 15 случаях циркулирующий генетический вариант достоверно определить не представилось возможным. Это касалось таких рекомбинантных форм, как ХВВ.1.9, ХВВ.1.37.1 и ХВВ.2.1. В первую очередь это связано с необходимостью секвенирования более длинного S-участка генома вируса. Например, для рекомбинантных форм ХВВ.2.1 и в редких случаях ХВВ.1.37.1 характерна аминокислотная замена G252V, которая находится в начале последовательности, кодирующей S-белок. В ряде случаев возникает необходимость анализировать и другие участки генома, в которых находятся характерные мутации. Например, рекомбинантная форма ХВВ.1.9.1 имеет

две дополнительные мутации в ORF1a – G1819S и T4175I, и без дополнительного анализа определить данный вариант не представляется возможным.

Таким образом, выполнить генотипирование с целью определения доминирующего циркулирующего генетического варианта возможно при использовании разных подходов, обладающих своими преимуществами и недостатками.

Заключение. Вирус SARS-CoV-2, являющийся возбудителем COVID-19, со временем претерпел значительные изменения. Учитывая, что процесс его эволюции продолжается, необходимо применение разных технологий и молекулярно-генетических методов для изучения частоты и спектра встречаемости мутаций, определения доминирующих или новых вариантов, обладающих эпидемическим потенциалом или влияющим на течение и исходы заболевания и эффективность применимых профилактических вакцин.

Для быстрого получения данных исследование может базироваться на определении уникальных единичных замен в геноме вируса, характерных для отдельных генетических вариантов, проведенных методом ПЦР в режиме «реального времени». Он является экономически выгодным, доступным, быстрым и легким при внедрении в лабораторную диагностику и позволяет получить реальную и актуальную информацию в короткие сроки. Тем не менее данный метод не способен полностью исключить или заменить результаты анализа нуклеотидных последовательностей, полученных методом частичного секвенирования по Сэнгеру, а также применения передовых методов полногеномного анализа нуклеотидных и аминокислотных последовательностей.

В нашей стране при осуществлении молекулярно-эпидемиологического слежения за распространением генетических вариантов вируса SARS-CoV-2 в разные периоды времени применяются все три подхода, что позволило получить полную характеристику и данные о ходе распространения вируса SARS-CoV-2 на территории Республики Беларусь. Проведение подобных исследований имеет важное значение для эффективного контроля за COVID-19, разработки вакцин, планирования общественного здравоохранения с целью поддержания общественного здоровья и предотвращения распространения инфекции.

Литература

1. Global map / Johns Hopkins University & Medicine. Coronavirus Resource Center. – URL: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html> (date of access: 20.09.2024).

2. Tracking SARS-CoV-2 variants / World Health Organization. – URL: <https://www.who.int/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants> (date of access: 20.09.2024).

3. The SARS-CoV-2 Omicron recombinant subvariants XBB, XBB.1, and XBB.1.5 are expanding rapidly with unique mutations, antibody evasion, and immune escape properties – an alarming global threat of a surge in COVID-19 cases again? / C. Chakraborty, M. Bhattacharya, H. Chopra [et al.] // International Journal of Surgery. – 2023. – Vol. 109, № 4. – P. 1041–1043.

4. GISAIID: Global initiative on sharing all influenza data : [website]. – 2008–2024. – URL: <https://gisaid.org> (date of access: 20.09.2024).

5. Распространение генетических вариантов вируса SARS-CoV-2 на территории г. Минска в феврале-мае 2021 года / К. Ю. Булда, Е. Л. Гасич, А. Д. Коско [и др.] // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики: рецензир. ежегод. сб. науч. тр. : в 2 т. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Белорус. гос. мед. ун-т; под ред. С. П. Рубниковича, В. А. Филонюка. – Минск, 2023. – Вып. 13, т. 2. – С. 125–132.

Bulda K. Y., Kosko A. D., Bunas A. S., Gasich E. L.

OPTIMIZATION OF METHODS USED FOR MOLECULAR GENETIC MONITORING OF SARS-COV-2 TO IDENTIFY OMICRON VARIANTS INCLUDING RECOMBINANT FORMS

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

The increasing number of COVID-19 cases at the end of 2021 has prompted the need for SARS-CoV-2 genotyping studies. Using the method of determination of single nucleotide polymorphisms, the main circulating variants, BA.1 and BA.2, and few cases of the Delta were identified. Using partial sequencing of the S-region, it was possible to determine whether samples identified as BA.1 belonged to the BA.1.1; using whole-genome sequencing it was possible to identify the variant BA.1.15. The methods of partial S-gene sequencing and whole-genome sequencing were highly-efficient for identifying Omicron recombinants: XBB.1, XBB.1.5, XBB.1.9, XBB.1.37.1, and XBB.2.1. When carrying out molecular epidemiological tracking

of SARS-CoV-2 variants over different time periods, these methods are used to obtain characteristics of the virus spread on the territory of the Republic of Belarus.

Keywords: coronavirus, mutations, sequencing, recombinant forms.

References

1. Global map. Available at: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html> (accessed 20 September 2024).
2. Tracking SARS-CoV-2 variants. Available at: <https://www.who.int/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants> (accessed 20 September 2024).
3. Chakraborty C., Bhattacharya M., Chopra H. et al. The SARS-CoV-2 Omicron recombinant subvariants XBB, XBB.1, and XBB.1.5 are expanding rapidly with unique mutations, antibody evasion, and immune escape properties – an alarming global threat of a surge in COVID-19 cases again? *Int J Surg.* 2023; 109(4): 1041–3.
4. GISAID: Global initiative on sharing all influenza data. Available at: <https://gisaid.org/> (accessed 20 September 2024).
5. Bulda K. Yu., Gasich E. L., Kosko A. D. et al. Distribution of virus genetic variants SARS-CoV-2 in Minsk in February–May 2021. In: Rubnikovich S. P., Filanyuk V. A., ed. *BGMU v avangarde medicinskoj nauki i praktiki (Advances in medicine and medical sciences)*: Collection of Belarusian state medical university. In 2 vol. Iss. 13. Vol. 2. Minsk; 2023: 125–32. (in Russian)

e-mail для переписки: buldakyworks@gmail.com

Поступила 03.10.2024

УДК [616.98:578.828]:615.015.8(476)“2018-2019”

Бунас А. С., Гасич Е. Л., Булда К. Ю., Коско А. Д.

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ПЕРВИЧНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ВИЧ-1 В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ (2018–2019 ГОДЫ)

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Первичная лекарственная устойчивость ВИЧ-1 может приводить к понижению эффективности применения схем первой линии антиретровирусной терапии. Нами была изучена генотипическая принадлежность выявленных в Республике Беларусь ВИЧ-1 и распространенность лекарственной устойчивости возбудителя в группе пациентов перед началом лечения. Всего было исследовано 233 нуклеотидных последовательности ВИЧ-1, обнаруженных в биологическом материале пациентов, начинающих терапию в 2018–2019 гг. Превалирующим подтипом ВИЧ-1 являлся А6 (97,0 %), в единичных случаях выявлены прочие генетические варианты. Лекарственная устойчивость высокого уровня к лекарственным средствам группы нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы ВИЧ – эфавирензу и невирапину превысила порог 10 % (10,3 % и 10,7 % соответственно). Среди мутаций превалировала мутация K103N, частота встречаемости которой составила 8,2 %. Полученные данные указывают на необходимость проведения рутинного тестирования лекарственной резистентности для пациентов, получающих первую линию терапии ВИЧ-1, и, при необходимости, перехода на препараты второй линии.

Ключевые слова: первичная лекарственная устойчивость, ВИЧ-1, мутации, подтип.

Введение. За период январь – май 2024 г. в Республике Беларусь было зарегистрировано 549 новых случаев ВИЧ-инфекции, а показатель заболеваемости по сравнению с аналогичным периодом 2023 г. снизился на 7,7 % [1]. Тем не менее проблема ВИЧ-инфекции остается значимой для нашей страны. В Республике Беларусь начиная с 2018 г. антиретровирусная терапия (далее – АРТ) назначается всем пациентам вне зависимости от стадии заболевания и количества CD4+ лимфоцитов, что способствует как снижению распространения ВИЧ-инфекции, уровня смертности, так и предотвращению передачи ВИЧ-1.

Согласно имеющимся данным, с увеличением количества ВИЧ-инфицированных пациентов, получающих АРТ, увеличивается и распространенность лекарственной устойчивости ВИЧ-1. Как результат – увеличение случаев провала лечения и распространение мутаций первичной лекарственной устойчивости

у пациентов только начинающих АРТ. Так, по данным Всемирной организации здравоохранения (далее – ВОЗ), в 21 из 30 таких исследований установлено превышение 10%-го уровня лекарственной устойчивости к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы (далее – ННИОТ) невирапину и эфавирензу у пациентов, начинающих первую линию терапии [2]. Распространенность резистентности к ННИОТ как у взрослых, так и у детей указывает на необходимость ускорения перехода на схемы лечения, включающие ингибитор интегразы долутегравир. В Республике Беларусь в 2022 г. утвержден клинический протокол «Оказание медицинской помощи пациентам с ВИЧ-инфекцией», согласно которому в настоящее время осуществляется переход на долутегравир-содержащие схемы терапии.

Лекарственная устойчивость ВИЧ-1 развивается спонтанно, однако после начала лечения происходит отбор мутаций резистентности под селективным давлением средств АРТ. Существенное значение в развитии резистентности играет генетический барьер лекарственного средства, который определяется как количество мутаций, необходимых для развития лекарственной устойчивости. Для лекарственных средств с низким генетическим барьером, таких как ННИОТ, достаточно возникновения одной основной аминокислотной замены, тогда как для лекарственных средств с высоким генетическим барьером (бустированные ритонавиром ингибиторы протеазы и ингибиторы интегразы второго поколения) требуется наличие большего количества мутаций. Помимо основных мутаций, в механизме развития лекарственной устойчивости также участвуют вторичные мутации, выполняющие вспомогательную функцию. Такие мутации сами по себе зачастую оказывают незначительный эффект на возникновение и уровень лекарственной устойчивости, однако в случае появления основных мутаций происходит резкий рост уровня резистентности.

Кроме того, из-за схожести механизма действия некоторых ингибиторов на вирусную мишень, мутации лекарственной устойчивости к одному лекарственному средству могут приводить к возникновению перекрестной устойчивости к лекарственным средствам того же класса.

Цель работы – установить распространенность мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ-1 к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы (далее – НИОТ) и ННИОТ и ингибиторам протеазы в группе пациентов, начинающих первую линию антиретровирусной терапии, в период с июня 2018 г. по декабрь 2019 г.

Материалы и методы. В исследование включено 233 образца РНК ВИЧ-1, выделенной из сыворотки/плазмы крови пациентов с ВИЧ-инфекцией, проживающих на территории Республики Беларусь. Критериями отбора являлись: возраст более 18 лет, отсутствие опыта антиретровирусной терапии либо возобновление терапии после длительного перерыва (более трех месяцев). Период сбора материала с июня 2018 г. по декабрь 2019 г.

Для экстракции РНК ВИЧ-1 использовались комплекты реагентов «РИБО-преп» и «Рибо-Золь Е» производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (Москва, Россия).

Генотипирование образцов по участку гена *gag-pol* выполнено с использованием тест-системы для субтипирования и выявления мутаций резистентности ВИЧ к антиретровирусным препаратам в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (далее – ПЦР) с последующим секвенированием продуктов амплификации «Бел ВИЧ-1-резистентность-субтип», производства РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (Минск, Беларусь).

Секвенирование по Сэнгеру полученных ПЦР-продуктов проведено на генетическом анализаторе 3500 Applied Biosystems (Applied Biosystems, США). Биоинформационный анализ выполнен при помощи программного обеспечения SeqA 6 и SeqScape 3 v.3.0. Выравнивание последовательностей осуществлено при помощи онлайн-ресурса HIVAlign с использованием скрытых марковских моделей (НММ – a hidden Markov model), дополнительное выравнивание проведено вручную в программе AliView v1.28 [3].

Поиск аминокислотных замен, приводящих к развитию лекарственной устойчивости ВИЧ-1 к лекарственным средствам АРТ, был осуществлен с использованием алгоритма HIVdb Стэнфордского университета. Согласно данному алгоритму, выделяют пять уровней лекарственной устойчивости ВИЧ-1, определяемых в зависимости от количества баллов (drug penalty score), присвоенных каждой мутации или их комбинации. Баллы характеризуют взаимосвязь мутаций с лекарственной устойчивостью, их количество зависит от ряда критериев. Вирус считается восприимчивым к лекарственному средству, если количество баллов не превышает 9, потенциально низкий уровень устойчивости определяется при количестве баллов от 10 до 14, низкий – от 15 до 29, средний – от 30 до 59, высокий – от 60 до 100.

Определение генотипов/подтипов ВИЧ-1 выполнено с использованием программ COMET HIV-1 v.2.4 и REGA HIV-1 Subtyping Tool v.3.0 [4, 5].

Для 233 исследуемых образцов было выполнено секвенирование и биоинформационный анализ нуклеотидных последовательностей с целью определения мутаций лекарственной устойчивости (MDRMs – major drug-resistance mutations) и мутаций, значимых для эпидемиологического надзора (SDRMs – surveillance drug-resistance mutations).

Поиск замен лекарственной устойчивости к ингибиторам обратной транскриптазы и протеазы осуществлялся с использованием алгоритма HIVdb Program v.9.5 на сайте базы данных лекарственной устойчивости ВИЧ Стэнфордского университета [6]. Для построения и визуализации сетей передачи ВИЧ-инфекции использовалось программное обеспечение MicrobeTrace v.0.9.0, порог генетической дистанции составил 0,015 [7]. Статистическая обработка данных проводилась с использованием программного обеспечения Microsoft Excel 2016.

Результаты и их обсуждение

Демографическая и эпидемиологическая характеристика образцов, включенных в исследование

Образцы были получены от 233 пациентов с ВИЧ-инфекцией из семи регионов Республики Беларусь, наибольшее количество поступило из Минска (n = 95). Медианный возраст всех пациентов составил 36 лет, мужчин (n = 165) – 36 лет, женщин (n = 68) – 37 лет. Распределение по географическим регионам и эпидемиологическая характеристика представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Распределение по географическим регионам и эпидемиологическая характеристика образцов (пол, возраст, регион)

Половозрастная структура	Брестская обл.	Витебская обл.	Гомельская обл.	Гродненская обл.	г. Минск	Минская обл.	Могилевская обл.	Всего
18–25 лет	0	0	3	0	3	3	1	10
женщин	0	0	1	0	3	1	0	5
мужчин	0	0	2	0	0	2	1	5
26–35 лет	3	0	25	0	52	20	2	102
женщин	1	0	9	0	9	6	2	27
мужчин	2	0	16	0	43	14	0	75
36–45 лет	5	4	16	1	34	24	5	89
женщин	1	1	8	0	6	5	0	21
мужчин	4	3	8	1	28	19	5	68
более 45 лет	1	1	13	2	6	6	3	32
женщин	0	1	7	1	1	4	1	15
мужчин	1	0	6	1	5	2	2	17

Подтипы ВИЧ-1, циркулирующие в Республике Беларусь

Среди генотипов ВИЧ-1 превалировал подтип А, представленный подподтипом А6, к которому принадлежало 97,0 % (226/233) полученных последовательностей. В единичных случаях встречались подтипы В (1,3 %, 3/233) и G (0,9 %, 2/233), а также циркулирующие рекомбинантные формы CRF03_A6B (0,4 %, 1/233) и CRF63_02A1 (0,4 %, 1/233). Таким образом, подподтип А6 остается доминирующим генетическим вариантом ВИЧ-1 на территории Республики Беларусь.

Распространенность мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ-1

Анализ распространенности лекарственной устойчивости ВИЧ-1 к ингибиторам обратной транскриптазы и протеазы (далее – ИП) показал, что в 59,2 % (139/233) последовательностей не было обнаружено ни одной аминокислотной замены, приводящей к развитию лекарственной устойчивости к НИОТ, ННИОТ и ИП ВИЧ-1. В 2,6 % последовательностей (6/233) обнаружены мутации лекарственной устойчивости (только вторичные) к ИП, в 12,9 % (30/233) – к НИОТ, в 21,5 % последовательностей (50/233) – к ННИОТ. Аминокислотные замены, обуславливающие развитие лекарственной устойчивости к любому из трех групп лекарственных средств, были выявлены в 42,5 % последовательностей (99/233), в 40,8 % случаев (95/233) – к НИОТ и ННИОТ.

В 1,3 % случаев была выявлена лекарственная устойчивость к ИП, а именно низкого уровня к нелфинавиру.

Частота возникновения лекарственной устойчивости к НИОТ ВИЧ-1 в общем составила 3,4 % с преобладанием лекарственной устойчивости к эмрицитабину и ламивудину (2,1 %).

Лекарственная устойчивость к ННИОТ была выявлена в 11,6 %, наиболее распространена лекарственная устойчивость высокого уровня к эфавирензу (10,3 %) и невирапину (10,7 %).

Частота возникновения и уровень лекарственной устойчивости, обусловленный основными мутациями лекарственной устойчивости, представлены на рисунке 1.

Анализ спектра основных мутаций лекарственной устойчивости к ИП ВИЧ-1 показал присутствие аминокислотных замен L33F и M46L в 1,3 % (3/233) и 0,9 % (2/233) соответственно. Стоит отметить, что замена лейцина на фенилаланин в 33 позиции у пациентов, инфицированных ВИЧ-1, подтипа 1 или рекомбинантных форм CRF01_AE и CRF02_AG без опыта лечения возникает с частотой около 1,0%, тогда как для остальных подтипов данная замена не является естественным полиморфизмом. Все последовательности, в которых нами была выявлена замена L33F, принадлежали подтипу А6.

Среди аминокислотных замен, ассоциированных с лекарственной устойчивостью к НИОТ, с наибольшей частотой встречались замены M41L (2,1 %, 5/233) и M184V/I (1,7 %, 4/233). Замена метионина на лейцин в 41 позиции является одной из аминокислотных замен лекарственной устойчивости к аналогам тимидина (TAM's), таким как зидовудин и ставудин. Как правило, она возникает в комбинации с заменой T215Y, что приводит к снижению восприимчивости вируса к зидовудину в 12 раз, к абакавиру и тенофовиру – в 2 раза. Комбинация M41L/L210W/T215Y, в свою очередь, снижает восприимчивость ВИЧ-1 к зидовудину более чем в 100 раз, к абакавиру и тенофовиру – в 3 раза. Несмотря на то что в единичном случае было установлено наличие обеих аминокислотных замен L210W и T215Y, ни в одной из проанализированных последовательностей не было обнаружено комбинации данных мутаций с заменой M41L.

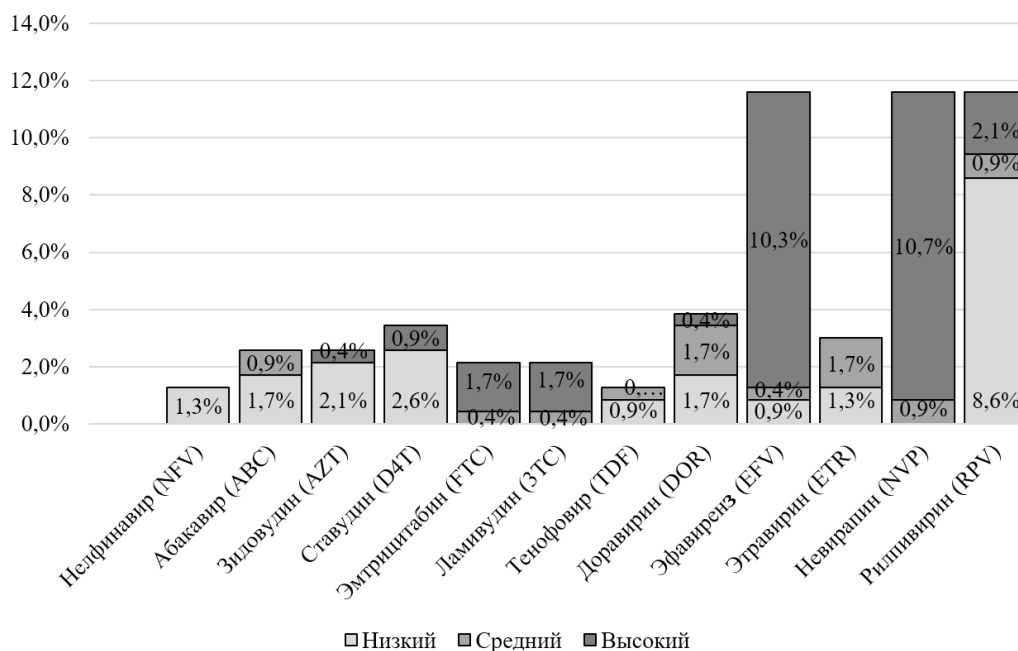


Рисунок 1 – Частота возникновения и уровень лекарственной устойчивости ВИЧ-1 к ИП, НИОТ и ННИОТ

Примечательно, что в 12,9 % случаев (30/233) встречалась аминокислотная замена A62V, при этом все последовательности, в которых она была выявлена, принадлежали подтипу А6. Данная мутация является естественным полиморфизмом подтипа А6 и компенсаторной мутацией, исправляющей сниженную репликацию ВИЧ-1, которая возникает при наличии замены K65R или мутаций лекарственной устойчивости к нескольким ингибиторам данной группы (комплекс Q151M, Beta3-Beta4 инсерции и делеции).

Из мутаций лекарственной устойчивости к лекарственным средствам группы ННИОТ с высокой частотой встречались две: K103N в 8,2 % последовательностей (19/233) и E138A – в 7,3 % (17/233). Замена K103N, как правило, возникает у пациентов, в схеме АРТ которых присутствует невирапин или эфавиренз, и снижает восприимчивость к данным лекарственным средствам в 50 и 20 раз соответственно. Согласно литературным данным, именно замена лизина на аспарагин в 103 положении является наиболее часто распространенной мутацией передаваемой лекарственной устойчивости. В свою очередь, аминокислотная замена E138A является естественным полиморфизмом, ее распространенность

зависит от подтипа ВИЧ-1. Так, с наибольшей частотой данная мутация встречается в последовательностях подтипов С (6,1 %), F (5,1 %) и А (3,3 %), а в последовательностях подподтипа А6, распространенного на территории стран бывшего Советского Союза, – с частотой 4–8 % в зависимости от региона [8].

Данные о частоте встречаемости основных мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ-1 к ингибиторам протеазы и обратной транскриптазы представлены на рисунке 2.

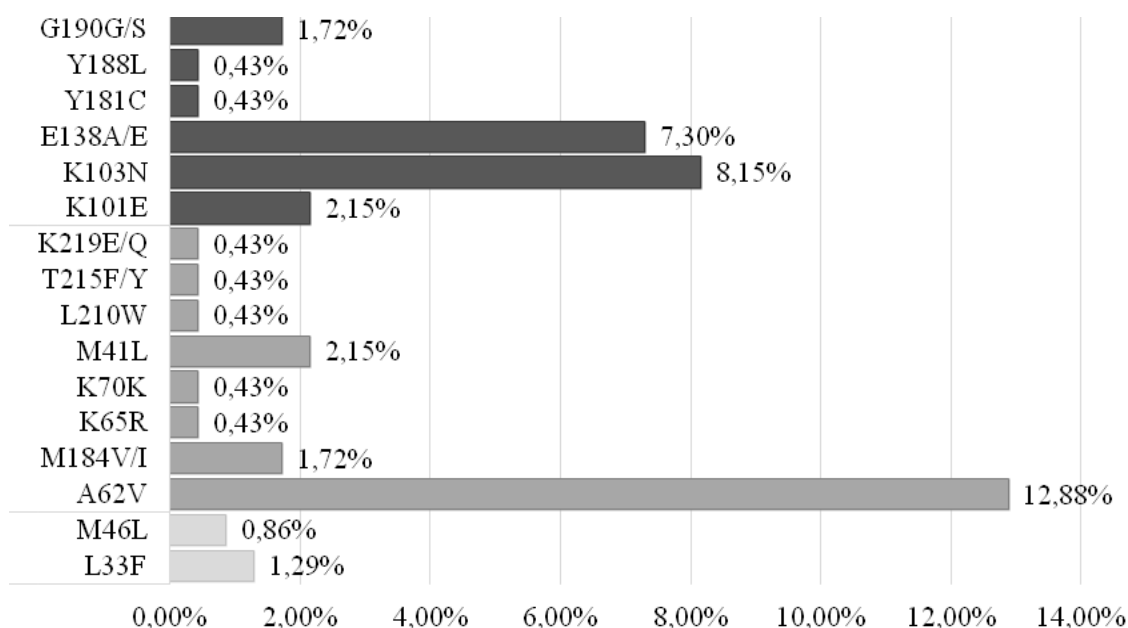


Рисунок 2 – Частота встречаемости основных мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ-1 к ИП, НИОТ и ННИОТ

Была установлена распространенность мутаций из сформированного ВОЗ списка мутаций лекарственной устойчивости, используемых для эпидемиологического надзора за передаваемой лекарственной устойчивостью (SDRM's), рисунок 3 [9].

Из полученных данных следует, что среди мутаций, значимых для эпидемиологического надзора, с наибольшей частотой встречается аминокислотная замена K103N, приводящая к развитию лекарственной устойчивости к ННИОТ – эфавирензу и невирапину.

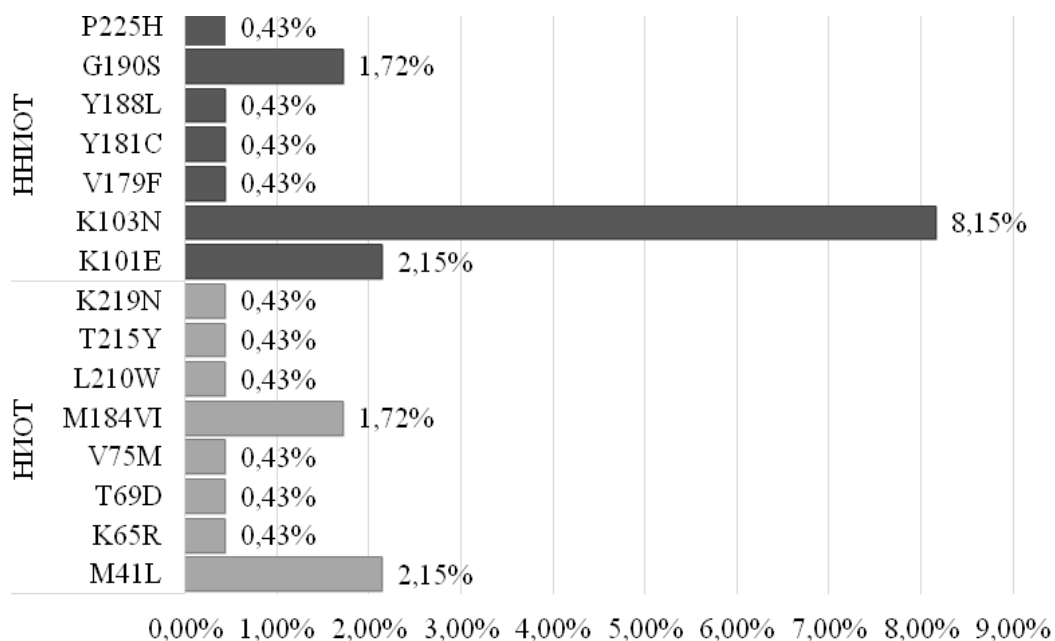


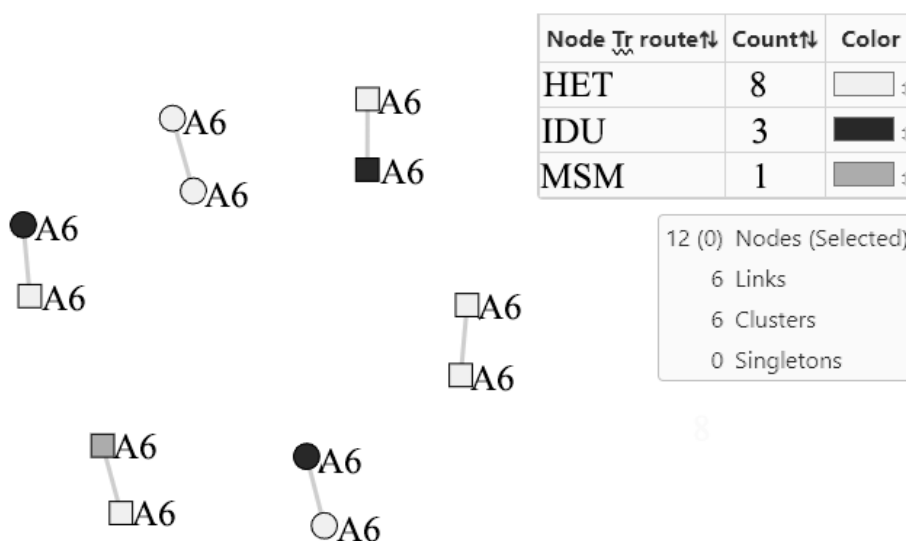
Рисунок 3 – Частота встречаемости мутаций, значимых для эпидемиологического надзора за передаваемой лекарственной устойчивостью

Молекулярные сети передачи ВИЧ-1

Для построения сетей передачи ВИЧ-1 в общей сложности было проанализировано 233 последовательности участка гена *pol*, кодирующего протеазу и обратную транскриптазу. Построение сетей передачи осуществляли в программе MicrobeTrace с порогом генетического расстояния 0,015 (1,5 %), что выявило максимальное количество кластеров; 12 из 233 (5,15 %) последовательностей образовали 6 кластеров, все из которых включали по 2 пациента. Среди них 9 было инфицировано половым путем (8 – гетеросексуальным, 1 – гомосексуальным), 3 – парентеральным путем (прием инъекционных наркотических веществ), рисунок 4.

Два кластера включали пациентов одного пола (№ 1 – женского, № 6 – мужского), инфицированных ВИЧ-1 в результате гетеросексуального контакта, что дает основание предположить наличие в цепи передачи еще одного или нескольких пациентов, не включенных в данное исследование.

Все 12 последовательностей ВИЧ-1, образовавших кластеры, принадлежали к подподтипу А6. Ни в одном из кластеров не было отмечено передачи ВИЧ-1, имеющего мутации из списка мутаций, используемых для эпидемиологического надзора за передаваемой лекарственной устойчивостью.



Node Tr route – путь передачи ВИЧ-инфекции: HET – гетеросексуальный; IDU – прием инъекционных наркотиков; MSM – гомосексуальный.

Квадратами обозначены пациенты мужского пола, кругами – женского.

Рисунок 4 – Кластерный анализ путей передачи ВИЧ-инфекции

Заключение. В данном исследовании нами было изучено генетическое разнообразие, распространенность мутаций лекарственной устойчивости и показаны особенности распространения ВИЧ-1 среди пациентов, начинающих первую линию терапии в 2018–2019 гг. в Республике Беларусь, с применением метода молекулярных сетей.

В данной популяции выявлено пять подтипов ВИЧ-1 с преобладанием генотипа А, представленного подподтипом А6 в 97,0 % последовательностей.

Распространенность первичной лекарственной устойчивости к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы составила 11,6 %, что превышает установленный ВОЗ порог в 10 % и требует принятия мер в области общественного здравоохранения. Необходимо отметить высокий процент лекарственной устойчивости высокого уровня к двум лекарственным средствам данной группы – эфавирензу и невирапину, составивший 10,3 % и 10,7 % соответственно. Низкий уровень лекарственной устойчивости к ингибиторам протеазы и нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы указывает на эффективность их применения для лечения пациентов с ВИЧ-инфекцией.

Итак, получены данные о распространенности основных мутаций лекарственной устойчивости ВИЧ-1 к таким классам лекарственных средств антиретровирусной терапии, как нуклеозидные и нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы и ингибиторы протеазы. С наибольшей частотой (8,2 %) встречалась аминокислотная замена K103N, ассоциированная с лекарственной устойчивостью

к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы эфавирензу и невирапину, снижающая восприимчивость вируса к данным лекарственным средствам в 20 и 50 раз соответственно. Реже были выявлены другие мутации: K101E присутствовала в 2,1 % последовательностей, G190G/S – в 1,7 %, замены Y181C и Y188L выявлены в единичных случаях (0,4 %).

С низкой частотой (менее 2,5 %) в исследованных нами последовательностях ВИЧ-1 встречались аминокислотные замены, приводящие к развитию лекарственной устойчивости к ингибиторам протеазы – L33F (1,3 %) и M46L (0,9 %), и нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы – M41L (2,1 %) и M184V/I (1,7 %). Прочие основные мутации лекарственной устойчивости к нуклеозидным ингибиторам обратной транскриптазы (K65R, K70K, L210W, T215F/Y, K219E/Q) были выявлены в 0,4 % последовательностей каждая.

Кроме того, в 12,9 % последовательностей, кодирующих участок обратной транскриптазы, все из которых принадлежали подтипу А6, присутствовала компенсаторная мутация A62V; в 7,3 % последовательностей – мутация E138A/E. Обе аминокислотные замены являются естественными полиморфизмами для подтипа А6: согласно литературным данным, частота встречаемости замены A62V в последовательностях гена *pol*/ВИЧ-1 подтипа А6 может достигать 22,0 %, а замены E138A/E – 8 % [8, 10].

Анализ частоты встречаемости мутаций эпидемиологического надзора за передаваемой лекарственной устойчивостью не выявил различий с частотой встречаемости основных мутаций лекарственной резистентности.

Кластерный анализ молекулярных сетей передачи ВИЧ-инфекции показал наличие 6 кластеров, включающих по 2 пациента, а также отсутствие передачи внутри кластеров вариантов ВИЧ-1, имеющих мутации первичной лекарственной устойчивости. Все пациенты, включенные в кластеры, были инфицированы ВИЧ-1 подподтипа А6.

Результаты проведенного исследования указывают на необходимость наблюдения за распространенностью и характером первичной лекарственной устойчивости, поскольку полученные данные могут быть использованы при оптимизации руководств по лечению ВИЧ-инфекции и способствовать снижению распространенности лекарственно-устойчивых вариантов ВИЧ-1 в перспективе.

Литература

1. Эпидситуация по ВИЧ-инфекции в Республике Беларусь по состоянию на 1 июня 2024 года // 17-я городская детская клиническая поликлиника. – URL: <https://17gdp.by/информация/полезно-знать/профилактика-вич-спид/document-261013.html> (дата обращения: 30.09.2024).
2. HIV drug resistance : fact sheets // World Health Organization. – URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hiv-drug-resistance> (date of access: 21.11.2023).
3. HIValign. VirAlign for HIV sequences // HIV Sequence Database. – URL: <https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/VIRALIGN/viralgn.html> (date of access: 21.11.2023).
4. COMET: adaptive context-based modeling for ultrafast HIV-1 subtype identification / D. Struck, G. Lawyer, A. M. Ternes [et al.] // *Nucleic Acids Research*. – 2014. – Vol. 42, № 18. – P. e144. – DOI: 10.1093/nar/gku739.
5. REGA HIV-1 subtyping tool – version 3.0 // HIV drug resistance database. – URL: <http://dbpartners.stanford.edu:8080/RegaSubtyping/stanford-hiv/typingtool/> (date of access: 21.11.2023).
6. Liu, T. F. Web resources for HIV type 1 genotypic-resistance test interpretation / T. F. Liu, R. W. Shafer // *Clinical Infectious Diseases* – 2006. – Vol. 42, № 11. – P. 1608–1618.
7. MicrobeTrace: retooling molecular epidemiology for rapid public health response / E. M. Campbell, A. Boyles, A. Shankar [et al.] // *PLOS Computational Biology*. – 2021. – Vol. 17, № 9. – P. e1009300. – DOI: 10.1371/journal.pcbi.1009300.
8. Pre-existing singleton E138A mutations in the reverse transcriptase gene do not affect the efficacy of first-line antiretroviral therapy regimens using rilpivirine in human immunodeficiency virus-infected patients / A. Kuznetsova, A. Lebedev, K. Gromov [et al.] // *Clinical Case Reports*. – 2022. – Vol. 10, № 2. – P. e05373. – DOI: 10.1002/ccr3.5373.
9. Drug resistance mutations for surveillance of transmitted HIV-1 drug-resistance: 2009 update / D. E. Bennett, R. J. Camacho, D. Otelea [et al.] // *PLOS One*. – 2009. – Vol. 4, № 3. – P. e4724. – DOI: 10.1371/journal.pone.0004724.
10. HIV-1 sub-subtype A6: settings for normalised identification and molecular epidemiology in the Southern Federal District, Russia / M. Schlösser, V. V. Kartashev, V. H. Mikkola [et al.] // *Viruses*. – 2020. – Vol. 12, № 4. – P. 475. – DOI: 10.3390/v12040475.

**GENETIC DIVERSITY AND PREVALENCE OF HIV-1 PRE-TREATMENT DRUG RESISTANCE
IN BELARUS, 2018–2019**

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

Primary drug resistance of HIV-1 may reduce the effectiveness of first-line antiretroviral therapy regimens. We studied the genetic affiliation of HIV-1 detected in the Republic of Belarus and prevalence of drug resistance in a group of patients before starting treatment. A total of 233 nucleotide sequences obtained in 2018–2019 from patients with HIV infection starting therapy were studied. The predominant subgenotype of HIV-1 was A6 (97.0 %), in isolated cases other genetic variants were identified. High-level drug resistance to drugs from the group of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors of HIV – efavirenz and nevirapine – exceeded the threshold of 10 % (10.3 % and 10.7 %, respectively). The K103N mutation prevailed among the mutations, with the frequency 8.2 %. These findings indicate the need for routine drug resistance testing for patients receiving first-line HIV therapy or switching to second-line drugs.

Keywords: primary drug resistance, HIV-1, mutations, subgenotype.

References

1. Epidemic situation of HIV infection in the Republic of Belarus as of June 1, 2024. In: 17-ya gorodskaya detskaya klinicheskaya poliklinika. Available at: <https://17gdp.by/информация/полезно-знать/профилактика-вич-спид/document-261013.html> (accessed 30 September 2024).
2. HIV drug resistance: Fact sheets. In: World Health Organization. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hiv-drug-resistance> (accessed 21 November 2023).
3. HIValign. VirAlign for HIV sequences. In: HIV Sequence Database. Available at: <https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/VIRALIGN/viralign.html> (accessed 21 November 2023).
4. Struck D., Lawyer G., Ternes A. M. et al. COMET: adaptive context-based modeling for ultrafast HIV-1 subtype identification. *Nucleic Acids Res.* 2014; 42(18): e144. DOI: 10.1093/nar/gku739.
5. REGA HIV-1 subtyping tool – version 3.0. In: HIV drug resistance database. Available at: <http://dbpartners.stanford.edu:8080/RegaSubtyping/stanford-hiv/typingtool> (accessed 21 November 2023).
6. Liu T. F., Shafer R. W. Web resources for HIV type 1 genotypic-resistance test interpretation. *Clin Infect Dis.* 2006; 42(11): 1608–18.
7. Campbell E. M., Boyles A., Shankar A. et al. MicrobeTrace: retooling molecular epidemiology for rapid public health response. *PLoS Comput Biol.* 2021; 17(9): e1009300. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1009300.
8. Kuznetsova A., Lebedev A., Gromov K. et al. Pre-existing singleton E138A mutations in the reverse transcriptase gene do not affect the efficacy of first-line antiretroviral therapy regimens using rilpivirine in human immunodeficiency virus-infected patients. *Clin Case Rep.* 2022; 10(2): e05373. DOI: 10.1002/ccr3.5373.
9. Bennett D. E., Camacho R. J., Otelea D. et al. Drug resistance mutations for surveillance of transmitted HIV-1 drug-resistance: 2009 update. *PLoS One.* 2009; 4(3): e4724. DOI: 10.1371/journal.pone.0004724.
10. Schlösser M., Kartashev V. V., Mikkola V. H. et al. HIV-1 sub-subtype A6: settings for normalised identification and molecular epidemiology in the Southern Federal District, Russia. *Viruses.* 2020; 12(4): 475. DOI: 10.3390/v12040475.

e-mail для переписки: stacy.bunas@gmail.com

Поступила 03.10.2024

Коско А. Д., Булда К. Ю., Бунас А. С., Гасич Е. Л.

АНАЛИЗ МУТАЦИЙ ВИРУСА SARS-COV-2, АССОЦИИРОВАННЫХ С РЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ К МОНОКЛОНАЛЬНЫМ АНТИТЕЛАМ

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Глобальное распространение вируса SARS-CoV-2, а также отсутствие эффективных и безопасных противовирусных препаратов вызвало необходимость в изучении перспективных мишеней для лечения и профилактики COVID-19. Одной из таких мишеней стал S белок, на который направлено действие моноклональных антител, ингибирующих проникновение вируса в клетку. Эволюция вируса привела к появлению новых вариантов SARS-CoV-2, представляющих проблемы при применении моноклональных антител для нейтрализации вируса из-за изменения мишени действия этих антител. В данной обзорной статье описывается строение и функции S белка как мишени для противовирусной терапии, а также мутации генома SARS CoV-2, приводящие к снижению вируснейтрализующей активности антител.

Ключевые слова: белок S, моноклональные антитела, мутации, противовирусная терапия, резистентность, COVID-19, SARS-CoV-2.

Введение. SARS-CoV-2 является одноцепочечным РНК-вирусом, вызывающим COVID-19. Быстрое и глобальное распространение нового коронавируса человека вызвало острую необходимость в открытии перспективных мишеней для лечения COVID-19. Одной из таких мишеней для разрабатываемых вакцин и препаратов моноклональных антител стал структурный поверхностный белок S, обеспечивающий проникновение вируса путем взаимодействия с рецептором человеческого ангиотензин-превращающего фермента 2 (ACE2) на поверхности клеток организма-хозяина и отвечающий за слияние вирусной и клеточной мембран.

Разработка многочисленных вакцинных конструкций, а также единичных и комбинированных препаратов моноклональных антител (mAbs), направленных на первоначальный вариант вируса SARS-CoV-2, появившийся в 2019 году, обладали более чем 95 % защитной эффективностью против COVID-19. К таким препаратам относятся REGEN-COV, представляющий собой комбинацию двух различных моноклональных антител казирививаба с имдевимабом, производства компании Regeneron Pharmaceuticals (США), комбинация бамланивимаба с этесевимабом производства Eli Lilly and Company (США) и сотровимаб, разработанный компаниями GlaxoSmithKline и Vir Biotechnology (США).

Интенсивное развитие эпидемического процесса COVID-19 в глобальном масштабе создало благоприятные эволюционные условия для появления генетических вариантов возбудителя, которые приобретают новые патогенные свойства. Новые варианты SARS-CoV-2 несут мутации, в гене, кодирующем белок S, что, в свою очередь, оказывает влияние на структуру белка и облегчает проникновение вируса в клетки, а также снижает эффективность применения вакцин и моноклональных антител. ВОЗ классифицирует такие варианты, как «варианты, представляющие интерес» (VOI) и «варианты, вызывающие обеспокоенность» (VOC). К вариантам, вызывающим обеспокоенность, относятся Альфа (B.1.1.7), Бета (B.1.351), Гамма (P.1), Дельта (B.1.617) и Омикрон (B.1.1.529).

Вариант Альфа был впервые обнаружен в Великобритании в декабре 2020 года и отличается от штамма дикого типа наличием двух делеций (H69/V70 и Y144/145) и шести замен в S белке (N501Y, A570D, P681H/R, T716I, S982A и D1118H). Вариант Бета впервые был выявлен в Южной Африке в декабре 2020 года. Данный вариант имеет общую с B.1.1.7 мутацию N501Y в RBD домене S белка, а также еще восемь мутаций в S белке, включая K417N и E484K, которые находятся в RBD домене. Вариант Гамма, несущий 12 мутаций в S белке, в том числе мутацию N501Y, которая также присутствует в B.1.1.7 и B.1.351, и мутации L18F, K417T, E484K и D614G, характерные для варианта B.1.351, впервые был обнаружен в Бразилии в январе 2021 года. Вариант Дельта был впервые выявлен в Индии в декабре 2020 года и отличается наличием 23 мутаций, из которых семь (D111D, G142D, L452R, E484Q, D614G, P614R и P681R) находятся в области S белка. Наличие двойной мутации E484Q и L452R в RBD домене позволяет данному варианту обходить иммунитет, выработанный против исходного варианта SARS-CoV-2. Вариант Омикрон, наиболее поздний из всех вариантов, впервые был зарегистрирован в ноябре 2021 года, характеризуется наличием более чем 30 изменений в S белке, десять из которых расположены в RBD [1, 2].

Имеющиеся вакцины и моноклональные антитела сохраняют противовирусную эффективность в отношении варианта В.1.1.7, однако накопление мутаций в области RBD домена приводит к устойчивости последующих вариантов вируса к данным препаратам. Так, мутация в позиции 484 полностью отменяет действие бамланивимаба, а комбинация мутаций E484K и K417N значительно снижает эффективность казирививимаба для вариантов В.1.351 и P.1, хотя комбинация казирививимаба с имдевимабом сохраняет активность в отношении данных вариантов. Наличие двойной мутации E484Q и L452R в RBD варианта В.1.617 обеспечивает резистентность к бамланивимабу и казирививимабу. Множественные мутации, характерные для варианта В.1.1.529, привели к потере нейтрализующей активности всех препаратов моноклональных антител, за исключением сотривимаба [2].

Цель работы – проанализировать сведения о мутациях в S участке генома вируса SARS-CoV-2, потенциально приводящих к снижению нейтрализующей активности антител, на основе клинических, вирусологических и генотипических данных.

Материалы и методы. Анализ литературных данных, в которых представлены результаты клинических, вирусологических и молекулярно-генетических исследований.

Структура и функции S белка вируса SARS-CoV-2. Треть генома с 3'-конца вируса SARS-CoV-2 занимают гены, кодирующие четыре структурных белка: спайковый белок (S), белок оболочки (E), белок мембраны (M) и нуклеокапсидный фосфопроtein (N). S белок, вероятно, является наиболее изученным ввиду его незаменимой функции, обеспечивающей распознавание рецептора ACE2 клетки-хозяина с последующим связыванием и слиянием мембран, а также передачу инфекции соседним неинфицированным клеткам [2, 3].

S белок представляет собой тримерный полипептид, состоящий из двух функциональных субъединиц – S1, включающей в себя рецептор-связывающий домен (RBD), и S2, отвечающей за механизм слияния мембран. Белок S SARS-CoV-2 подвергается существенной структурной трансформации, приводящей к слиянию вирусной мембраны с мембраной клетки-хозяина. Этот процесс инициируется распознаванием и связыванием RBD субъединицы S1 с ACE2. Связывание с рецептором клетки-хозяина приводит к дестабилизации и отщеплению субъединицы S1, что вызывает трансформацию субъединицы S2 в стабильное состояние. Для взаимодействия с рецептором клетки, рецептор-связывающий домен S1 претерпевает петлеобразные конформационные изменения, которые временно скрывают или обнажают детерминанты связывания рецептора. Эти два состояния называются конформацией «вниз» и конформацией «вверх», где «вниз» соответствует состоянию, недоступному для рецептора, а «вверх» соответствует состоянию, доступному для рецептора, которое считается менее стабильным [3, 4].

Таким образом, S белок, ввиду его решающей роли в проникновении вируса в клетку, представляет собой терапевтическую мишень для нейтрализации антителами.

Антитела, нацеленные на RBD, были разделены на четыре основных класса на основе структурного анализа их эпитопов: два с эпитопами, перекрывающимися с сайтом связывания ACE2 (класс 1, блокирующие связывание ACE2, когда RBD находится в конформации «вверх», и класс 2, которые связывают поверхность RBD как в конформации «вверх», так и «вниз»); мощные нейтрализаторы, которые не связываются непосредственно с контактной поверхностью ACE2 (класс 3), и антитела, нацеленные на криптоэпитоп за пределами мотива связывания рецептора и, как правило, менее мощные (класс 4) [5, 6].

Мутации в геноме SARS-CoV-2, ассоциированные с резистентностью к моноклональным антителам. При лечении пациентов препаратами на основе моноклональных антител стали наблюдаться случаи снижения их эффективности. Анализ мишени, на которую направлено действие моноклональных антител, показал, что в отношении новых циркулирующих вариантов, имеющих большое количество мутаций в RBD домене S белка, эти препараты неэффективны. Так, наличие мутаций K417T, E484K в вариантах Бета и Гамма значительно снижает нейтрализующую активность казирививимаба, хотя комбинация казирививимаба и имдевимаба сохраняет активность против данных вариантов. В январе 2022 года Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) исключило использование REGEN-COV в регионах, где преобладало инфицирование вариантом Омикрон, который не восприимчив к терапии данным препаратом [1, 6–8].

При секвенировании генетических последовательностей вируса, полученных от пациентов, проходивших терапию препаратом REGEN-COV, были выявлены аминокислотные замены S477N, S494P, G446V и K537R на исходном уровне или в самых ранних временных точках (< 5 дней после начала терапии) и не наблюдалось значительного увеличения их частоты между ранними и поздними временными точками, что указывает на отсутствие отбора, связанного с лечением. Однако при оценке

уровня нейтрализации отдельных антител, входящих в состав REGEN-COV против вариантов, выявленных в разных временных точках у пациентов, получавших REGEN-COV, снижение потенции нейтрализации в 135 раз наблюдалось при использовании имдевимаба против варианта G446V и в 4,5 раза при использовании касиривимаба против варианта S494P. Для вариантов S477N и K537R никакого влияния не наблюдалось [9].

В австралийской когорте пациентов, инфицированных вариантом Дельта (B.1.617.2), были описаны мутации резистентности, специфичные для сотровимаба. У 8 из 100 пациентов через 6–13 дней после введения сотровимаба наблюдалась одна из следующих мутаций: E340A/K/V или P337L в сочетании с мутацией E340 [10]. В то время как P337L и E340A были отобраны в основном в варианте Дельта, в вариантах Омикрон (B.1.1.529) в тех же позициях были отобраны другие аминокислотные замены, преимущественно P337S/R и E340D/K [11, 12]. Примечательно, что сотровимаб является одним из немногих препаратов моноклональных антител, который сохраняет эффективность против широко циркулирующего варианта Омикрон, а описанные мутации были зарегистрированы исключительно в изолятах, полученных от пациентов с ослабленным иммунитетом после лечения сотровимабом.

Аминокислотная замена E340A также была обнаружена в эксперименте *in vitro* как мутация, приводящая к более чем 10-кратному увеличению IC50 сотровимаба. При оценке активности сотровимаба против циркулирующих вариантов вируса, несущих одиночные замены в эпитопе (на основании анализа последовательностей, депонированных в базе данных GISAID по состоянию на 11 ноября 2021 года), было показано, что умеренное изменение активности сотровимаба наблюдалось для вариантов, несущих замены K356T, P337H, P337T и E340G, в то время как более значительные сдвиги в потенции наблюдались для P337L/R/K и E340A/K/Q [13].

В процессе пассажа вируса SARS-CoV-2 в присутствии препарата моноклонального антитела цилгавимаб были идентифицированы замены R346I, K444R и K444E. В тесте связывания на основе бислойной интерферометрии было подтверждено резкое снижение связывания цилгавимаба с S белками, содержащими либо замену R346I, либо замены K444R или K444E [14].

Действие моноклональных антител против псевдовирюсов, содержащих мутации, обнаруженные в линии B.1.1.529, позволил установить, что замена Q493R опосредует устойчивость к этесевимабу (класс 1), а также к бамланивимабу (класс 2). Мутации N440K и G446S опосредуют устойчивость к имдевимабу (класс 3), а S371L широко влиял на нейтрализацию моноклональными антителами всех четырех классов. При оценке нейтрализующей активности той же панели вируснейтрализующих моноклональных антител против псевдовирюсов для B.1.1.7, B.1.526, B.1.429, B.1.617.2, P.1 и B.1.351 было отмечено, что предыдущие варианты развивали устойчивость только к антителам класса 1 и 2. B.1.1.529 совершил большой мутационный скачок, став не только почти полностью устойчивым к антителам класса 1 и класса 2, но и существенно устойчивым к антителам класса 3 и класса 4, что делает фактически неэффективной почти всю текущую терапию антителами против COVID-19 [15].

В сублиниях варианта Омикрон BA.2.12.1 и BA.4/5 были обнаружены замены, способствующие развитию устойчивости к антителам, отличные от замен, характерных для более ранних сублиний BA.1, BA.1.1 и BA.2. Так, L452M/R/Q, ранее обнаруженные в вариантах Дельта и Лямбда, обусловили устойчивость в основном к антителам классов 2 и 3. F486V в значительной степени снижала нейтрализующую активность некоторых антител классов 1 и 2. Напротив, реверсивная мутация R493Q сенсбилизировала BA.2 к нейтрализации несколькими антителами классов 1 и 2 [16].

Таким образом, представление эволюции вирусных антигенов с точки зрения различных классов эпитопов антител позволит интерпретировать воздействие вирусных мутаций и прогнозировать, в каких участках генома могут возникнуть новые мутации, обуславливающие резистентность к моноклональным антителам. Многие линии SARS-CoV-2 уже приобрели мутацию E484K, которая позволяет наиболее эффективно избегать действия антител.

Обсуждение. Изменчивость гена, кодирующего S белок вируса SARS-CoV-2, привела к распространению вариантов, обладающих способностью ускользать из-под действия антител. Так, варианты B.1.1.7, P.1, P.2 и B.1.526 несут в своем геноме замену E484K, позволяющая избегать антител класса 2, кроме того, для вариантов B.1.1.7 и P.1 характерно наличие мутаций K417N/T, опосредующих устойчивость к антителам класса 1. Мутации, потенциально связанные с резистентностью к моноклональным антителам, были обнаружены в вирусных изолятах от пациентов, получавших терапию сотровимабом, инфицированных вариантом Дельта – P337L и E340A и вариантом Омикрон – P337S/R и E340D/K. В целом B.1.1.529 совершил большой мутационный скачок, став не только почти полностью устойчивым

к антителам класса 1 и класса 2, но и существенно устойчивым к антителам класса 3 и класса 4, что снижает эффективность применения существующих препаратов моноклональных антител.

Заключение. Продолжающаяся эволюция SARS-CoV-2 с появлением новых вариантов свидетельствует о необходимости мониторинга циркулирующих в популяции вариантов вируса для выбора эффективной схемы терапии.

Сведения о НИР. НИР «Изучить влияние мутаций лекарственной устойчивости вируса SARS-CoV-2 на течение заболевания и эффективность применения средств противовирусного действия для лечения COVID-19 в отношении актуальных штаммов вируса и разработать алгоритм молекулярно-генетических исследований для их выявления» подпрограммы «Фундаментальные аспекты медицинской науки» Государственной программы научных исследований «Трансляционная медицина», регистрационный номер 20230286.

Литература

1. Raman, R. COVID-19: unmasking emerging SARS-CoV-2 variants, vaccines and therapeutic strategies / R. Raman, K. J. Patel, K. Ranjan // *Biomolecules*. – 2021. – Vol. 11, № 7. – P. 993.
2. Prüß, B. M. Variants of SARS CoV-2: mutations, transmissibility, virulence, drug resistance, and antibody/vaccine sensitivity / B. M. Prüß // *Frontiers in Bioscience*. – 2022. – Vol. 27, № 2. – P. 65.
3. Satarker, S. Structural proteins in severe acute respiratory syndrome Coronavirus-2 / S. Satarker, M. Nampoothiri // *Archives of Medical Research*. – 2020 – Vol. 51, № 6. – P. 482–491.
4. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation / D. Wrapp, N. Wang, K. S. Corbett [et al.] // *Science*. – 2020. – Vol. 367, № 6483. – P. 1260–1263.
5. SARS-CoV-2 neutralizing antibody structures inform therapeutic strategies / C. O. Barnes, C. A. Jette, M. E. Abernathy [et al.] // *Nature*. – 2020. – Vol. 588, № 7839. – P. 682–687.
6. Mapping mutations to the SARS-CoV-2 RBD that escape binding by different classes of antibodies / A. J. Greaney, T. N. Starr, C. O. Barnes [et al.] // *Nature Communications*. – 2021. – Vol. 12, № 1. – P. 4196.
7. SARS-CoV-2 variant B.1.617 is resistant to bamlanivimab and evades antibodies induced by infection and vaccination / M. Hoffmann, H. Hofmann-Winkler, N. Krüger, [et al.] // *Cell Reports*. – 2021. – Vol. 36, № 3. – P. 109415.
8. Antibody resistance of SARS-CoV-2 variants B.1.351 and B.1.1.7 / P. Wang, M. S. Nair, L. Liu [et al.] // *Nature*. – 2021. – Vol. 593, № 7857. – P. 130–135.
9. The monoclonal antibody combination REGEN-COV protects against SARS-CoV-2 mutational escape in preclinical and human studies / R. Copin, A. Baum, E. Wloga [et al.] // *Cell*. – 2021. – Vol. 184, № 15. – P. 3949–3961.
10. Resistance mutations in SARS-CoV-2 Delta variant after Sotrovimab use / R. Rockett, K. Basile, S. Maddocks [et al.] // *The New England Journal of Medicine*. – 2022. – Vol. 386, № 15. – P. 1477–1479.
11. Sotrovimab drives SARS-CoV-2 omicron variant evolution in immunocompromised patients / G. Destras, A. Bal, B. Simon [et al.] // *The Lancet. Microbe*. – 2022. – Vol. 3, № 8. – P. e559. – DOI: 10.1016/S2666-5247(22)00120-3.
12. Resistance mutations in SARS-CoV-2 omicron variant in patients treated with sotrovimab / C. Vellas, P. Trémeaux, A. Del Bello [et al.] // *Clinical Microbiology and Infection*. – 2022. – Vol. 28, № 9. – P. 1297–1299.
13. The dual function monoclonal antibodies VIR-7831 and VIR-7832 demonstrate potent in vitro and in vivo activity against SARS-CoV-2 / A. L. Cathcart, C. Havenar-Daughton, F. A. Lempp [et al.] // *bioRxiv*. – 2021. – URL: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.03.09.434607v12> (date of access: 20.09.2024).
14. Genetic and structural basis for SARS-CoV-2 variant neutralization by a two-antibody cocktail / J. Dong, S. J. Zost, A. J. Greaney [et al.] // *Nature Microbiology*. – 2021. – Vol. 6, № 1. – P. 1233–1244.
15. Striking antibody evasion manifested by the Omicron variant of SARS-CoV-2 / L. Liu, S. Iketani, Y. Guo [et al.] // *Nature*. – 2022. – Vol. 602, № 7898. – P. 676–681.
16. Antibody evasion by SARS-CoV-2 Omicron subvariants BA.2.12.1, BA.4 and BA.5 / Q. Wang, Y. Guo, S. Iketani [et al.] // *Nature*. – 2022. – Vol. 608, № 7923. – P. 603–608.

ANALYSIS OF SARS-CoV-2 VIRUS MUTATIONS ASSOCIATED WITH RESISTANCE TO MONOCLONAL ANTIBODIES

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

The global spread of the SARS-CoV-2 virus and the lack of effective and safe antiviral drugs have necessitated the study of promising targets for the treatment and prevention of COVID-19. One of those was the S protein, which is targeted by monoclonal antibodies that inhibit virus entry into the cell. The evolution of the virus has led to the emergence of new variants of SARS-CoV-2, which present problems when using monoclonal antibodies to neutralise the virus because of changes in the target of action of these antibodies. This review article describes the structure and function of the S protein as a target for antiviral therapy, as well as mutations in the SARS CoV-2 genome that lead to a decrease in the virus-neutralising activity of antibodies.

Keywords: S protein, monoclonal antibodies, mutations, antiviral therapy, resistance, COVID-19, SARS-CoV-2.

References

1. Raman R., Patel K. J., Ranjan K. COVID-19: unmasking emerging SARS-CoV-2 variants, vaccines and therapeutic strategies. *Biomolecules*. 2021; 11(7): 993.
2. Prüß B. M. Variants of SARS CoV-2: mutations, transmissibility, virulence, drug resistance, and antibody/vaccine sensitivity. *Front Biosci*. 2022; 27(2): 65.
3. Satarker S., Nampoothiri M. Structural proteins in severe acute respiratory syndrome Coronavirus-2. *Arch Med Res*. 2020; 51(6): 482–91.
4. Wrapp D., Wang N., Corbett K.S. et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*. 2020; 367(6483): 1260–3.
5. Barnes C. O., Jette C. A., Abernathy M.E. et al. SARS-CoV-2 neutralizing antibody structures inform therapeutic strategies. *Nature*. 2020; 588(7839): 682–7.
6. Greaney A. J., Starr T. N., Barnes C. O. et al. Mapping mutations to the SARS-CoV-2 RBD that escape binding by different classes of antibodies. *Nat Commun*. 2021; 12(1): 4196.
7. Hoffmann M., Hofmann-Winkler H., Krüger N. et al. SARS-CoV-2 variant B.1.617 is resistant to bamlanivimab and evades antibodies induced by infection and vaccination. *Cell Rep*. 2021; 36(3): 109415.
8. Wang P., Nair M. S., Liu L. et al. Antibody resistance of SARS-CoV-2 variants B.1.351 and B.1.1.7. *Nature*. 2021; 593(7857): 130–5.
9. Copin R., Baum A., Wloga E. et al. The monoclonal antibody combination REGEN-COV protects against SARS-CoV-2 mutational escape in preclinical and human studies. *Cell*. 2021; 184(15): 3949–61.
10. Rockett R., Basile K., Maddocks S. et al. Resistance mutations in SARS-CoV-2 Delta variant after Sotrovimab use. *N Engl J of Med*. 2022; 386(15): 1477–9.
11. Destras G., Bal A., Simon B. et al. Sotrovimab drives SARS-CoV-2 omicron variant evolution in immunocompromised patients. *Lancet Microbe*. 2022; 3(8): e559. DOI: 10.1016/S2666-5247(22)00120-3.
12. Vellas C., Trémeaux P., Del Bello A. et al. Resistance mutations in SARS-CoV-2 omicron variant in patients treated with sotrovimab. *Clin Microbiol Infect*. 2022; 28(9): 1297–9.
13. Cathcart A. L., Havenar-Daughton C., Lempp F. A. et al. The dual function monoclonal antibodies VIR-7831 and VIR-7832 demonstrate potent in vitro and in vivo activity against SARS-CoV-2. *bioRxiv*. 2021. Available at: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2021.03.09.434607v12> (accessed 20 September 2024).
14. Dong J., Zost S. J., Greaney A. J. et al. Genetic and structural basis for SARS-CoV-2 variant neutralization by a two-antibody cocktail. *Nat Microbiol*. 2021; 6(10): 1233–44.
15. Liu L., Iketani S., Guo Y. et al. Striking antibody evasion manifested by the Omicron variant of SARS-CoV-2. *Nature*. 2022; 602(7898): 676–81.
16. Wang Q., Guo Y., Iketani S. et al. Antibody evasion by SARS-CoV-2 Omicron subvariants BA.2.12.1, BA.4 and BA.5. *Nature*. 2022; 608(7923): 603–8.

e-mail для переписки: kosko.ad@gmail.com

Поступила 03.10.2024

Коско А. Д., Булда К. Ю., Бунас А. С., Гасич Е. Л.

МУТАЦИИ В ГЕНОМЕ ВИРУСА SARS-COV-2, СВЯЗАННЫЕ С ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ЛЕКАРСТВЕННЫМ СРЕДСТВАМ ПРЯМОГО ПРОТИВОВИРУСНОГО ДЕЙСТВИЯ

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Противовирусные препараты, используемые для лечения COVID-19, включают в себя ингибиторы наиболее консервативных и незаменимых ферментов вируса, главным образом основной протеазы и РНК-полимеразы. Было показано, что наличие мутаций E796G, C799F, E802D, D484Y, F480L и F480L/V557L в NSP12 приводит к снижению чувствительности вируса к терапии ремдесивиром. Замены в аминокислотных остатках NSP5 S144, M165, E166, H172 и Q192 в активном сайте связывания нирматрелвира приводят к ингибированию действия данного препарата. Понимание механизмов формирования лекарственной устойчивости является основой для определения стратегии и тактики применения противовирусных препаратов при лечении лекарственно-резистентных вариантов вируса SARS-CoV-2 и предупреждения тяжелого течения и летального исхода заболевания.

Ключевые слова: мутации, протеаза, противовирусная терапия, резистентность, РНК-зависимая РНК-полимераза, COVID-19, SARS-CoV-2.

Введение. Вирус SARS-CoV-2 относится к роду *β-коронавирусов (β-CoVs)* семейства *Coronaviridae*. Геном SARS-CoV-2 представляет собой позитивную одноцепочечную молекулу РНК (+ssRNA) размером от 29,8 до 29,9 т. п. н. с 14 открытыми рамками считывания (ORFs), кодирующими 27 белков. Две трети генома с 5'-конца генома занимает ORF1a и ORF1b, кодирующие полипротеины репликазы pp1ab и pp1a, которые далее обрабатываются кодируемыми вирусом протеиназами и образуют 15 неструктурных белков (NSP1-NSP10 и NSP12-NSP16). На 3'-конце генома находятся гены, кодирующие четыре структурных белка (S, E, M и N) [1].

Неструктурные белки представляют собой потенциальные мишени для разрабатываемых противовирусных препаратов ввиду их роли в жизненном цикле и репликации вируса. Для РНК-вирусов РНК-зависимая РНК-полимераза (RdRp, NSP12) представляет собой наиболее оптимальную лекарственную мишень благодаря решающей роли данного фермента в синтезе РНК, отсутствию гомологов в организме хозяина и высокой консервативности последовательности и структуры [2–4].

Важные для репликации ферменты не могут полностью функционировать без предварительного протеолитического расщепления перекрывающихся полипротеинов pp1a и pp1ab до отдельных функциональных белков. Геном вируса SARS-CoV-2 кодирует две протеазы PLpro (часть nsp3) и 3CLpro (nsp5). Папаиноподобная протеаза (PLpro) также распознает С-концевую последовательность убиквитина, поэтому ожидается, что субстратные ингибиторы PLpro будут ингибировать деубиквитиназы клетки-хозяина. В отличие от этого, 3-химотрипсин-подобная протеаза (3CLpro, она же основная протеаза Mpro) расщепляет исключительно полипептидные последовательности после остатка глутамина, что делает основную протеазу идеальной мишенью для действия лекарственных препаратов [5, 6].

Как уже показано на примере вирусов гепатита В, иммунодефицита человека, гепатита С и гриппа, противовирусная терапия приводит к появлению устойчивости. Так, появление мутаций резистентности к рибавирину было описано для RdRp вируса гепатита С и в значительной степени объясняется эволюцией однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), что обычно приводит к значительному снижению эффективности терапии. Аналогичным образом, эксперименты *in vitro* на SARS-CoV и SARS-CoV-2 показали, что специфические SNPs в nsp12, основной субъединице RdRp, могут изменять эффективность ремдесивира [7].

Цель работы – проанализировать сведения о спектре и причинах возникновения мутаций в геноме вируса SARS-CoV-2, которые могут оказывать влияние на эффективность применения препаратов прямого противовирусного действия, на основе клинических, вирусологических и генотипических данных.

Материалы и методы. Анализ литературных данных, в которых представлены результаты клинических, вирусологических и молекулярно-генетических исследований.

Мутации в геноме SARS-CoV-2, ассоциированные с резистентностью к ингибиторам РНК-зависимой РНК-полимеразы. Наиболее перспективным классом ингибиторов RdRp с широким спектром действия являются аналоги нуклеозидов и нуклеотидов (NAs). Все противовирусные нуклеозидные/нуклеотидные пролекарства, нацеленные на RdRp, после попадания в клетку хозяина метаболизируются в активную 5'-трифосфатную форму, которая конкурирует с эндогенными нуклеотидами в качестве субстрата для вирусной RdRp. NAs впоследствии включаются в зарождающуюся вирусную РНК под действием RdRp, затем либо прекращают, либо замедляют синтез РНК, тем самым оказывая свое противовирусное действие [2, 3, 8]. Однако, в отличие от многих других РНК-вирусов, геном SARS-CoV-2 кодирует 3'-5'-экзорибонуклеазу (ExoN), находящуюся на N-концевом домене NSP14, которая способна вырезать ошибочные мутагенные нуклеотиды, включенные RdRp в вирусную РНК, что вызывает устойчивость к препаратам нуклеотидных аналогов [2–4].

С момента начала пандемии многие нуклеотидные аналоги были протестированы против SARS-CoV-2. В частности, ремдесивир показал сильную анти-SARS-CoV-2 активность *in vitro* и в 2020 году был одобрен Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) в США для лечения пациентов с COVID-19. Ремдесивир метаболизируется в клетках организма хозяина, превращаясь в активный аналог аденозинтрифосфата (АТФ), включается в RdRp коронавируса с большей эффективностью, чем АТФ, что приводит к отсроченному прекращению синтеза РНК [3, 4].

Используя модельный β -коронавирус – вирус мышиноного гепатита (MHV), Agostini M. L. et al. продемонстрировали, что ремдесивир резко подавляет вирусную репликацию и синтез РНК вируса дикого типа, а мутант nsr14 ExoN(-), лишенный корректирующей функции, демонстрирует повышенную восприимчивость к ремдесивиру. Однако пассаж MHV в присутствии ремдесивира привел к фенотипической устойчивости, связанной с двумя несинонимичными мутациями в пальцевом домене РНК-зависимой РНК-полимеразы – F476L и V553L. Наличие гомологичных замен F480L и V557L в геноме SARS-CoV-2 также придало устойчивость к ремдесивиру: полумаксимальная эффективная концентрация (EC50) ремдесивира увеличилась в шесть раз в культурах, инфицированных SARS-CoV, несущих данные замены. При этом резистентность приводила к снижению жизнеспособности вируса, и в отсутствие ремдесивира эти вирусные мутанты реплицировались менее эффективно [9].

Точечная мутация D484Y в пальцевом субдомене RdRp, сходная с мутациями, описанными в SARS-CoV (F480L) и других коронавирусах (F476L), которые вызывают устойчивость к ремдесивиру *in vitro*, была обнаружена *in vivo* после 5-дневного курса лечения ремдесивиром у 76-летней женщины с В-клеточным иммунодефицитом и персистирующей вирусемией SARS-CoV-2. Данная замена не идентифицировалась в образцах, собранных до начала противовирусного лечения [10].

В другом исследовании пассаж SARS-CoV-2 в среде с ремдесивиром привел к появлению вируса со сниженной восприимчивостью к этому нуклеотидному аналогу. В изолятах данного вируса была идентифицирована замена глутаминовой кислоты на аспарагиновую кислоту в позиции 802 (E802D) nsr12, которая отсутствовала в вирусах, пассированных в отсутствие ремдесивира, и в вирусе дикого типа [11]. Такая же замена была выявлена у пациента с вялотекущим, затяжным течением COVID-19, ранее получавшим ремдесивир. При этом замена E802D отсутствовала в образце, полученном в начальной фазе заболевания и в образцах, собранных в течение первых 5 дней терапии [12].

При полногеномном секвенировании вируса SARS-CoV-2 у двух иммунокомпрометированных пациентов после приема ремдесивира независимо друг от друга была выявлена замена *de novo* V792I в открытой рамке считывания, кодирующей nsr12 [13]. В условиях *in vitro* данная аминокислотная замена выявлена в присутствии возрастающих концентраций ремдесивира, при этом концентрация полумаксимального ингибирования (IC50) ремдесивира увеличивалась в 2,6 раза [14].

Пассирование SARS-CoV-2 в присутствии 0,01 мкМ ремдесивира в течение 10 пассажей привело к снижению восприимчивости вируса к ремдесивиру и выявлению мутаций E796G и C799F в nsr 12 [15].

Культивирование рекомбинантных вирусов с аминокислотными заменами в позициях E796G, C799F, E802D, D484Y, F480L и F480L/V557L в присутствии ремдесивира привело к снижению противовирусного эффекта данного препарата. Отмечено, что в случае наличия только одной замены C799F скорость воспроизводства новых вирусных частиц была ниже, чем у вирусов, в геноме которых определялись одновременно три замены – C799F E796G и E802D. Также было показано, что появление замены E802D в SARS-CoV-2 или F476L/V553L в MHV приводит к снижению эффективности репликации вирусов в отсутствие ремдесивира. Обнаружение замены E802D в образцах вируса, полученных от пациентов, принимающих ремдесивир, свидетельствует об адаптации вируса к данному препарату

и необходимости проведения постоянного молекулярно-генетического мониторинга в группах пациентов с длительным течением COVID-19 [15].

Мутации в геноме SARS-CoV-2, ассоциированные с резистентностью к ингибиторам основной протеазы. Ингибитор основной протеазы нирматрелвир был одобрен для клинического применения. Нирматрелвир в комбинации с ритонавиром был разрешен FDA США для экстренного применения у лиц с высоким риском заражения SARS-CoV-2 под торговым названием паксловид (Paxlovid, Pfizer) [16].

Hu Y. et al. при исследовании встречающихся в природе полиморфизмов Mpro SARS-CoV-2 определили аминокислотные остатки, которые располагаются в активном сайте связывания нирматрелвира – S144, M165, E166, H172 и Q192. Мутации в данных остатках, по-видимому, будут оказывать прямое влияние на связывание субстрата и ингибирование лекарств, мишенью которых является вирусная протеаза. Используя резонансный перенос энергии флуоресценции, были определены мутации по данным позициям, которые не приводят к нарушению ферментативной активности и ослаблению репликации вируса, и в то же время потенциально связаны с резистентностью к нирматрелвиру. Данным критериям соответствовали 20 замен в гене Mpro: S144M/F/A/G/Y, M165T, E166G, H172Q/F, Q192T/S/L/A/I/P/H/V/W/C/F [17].

Замена S144A была указана в отчете компании Pfizer для поставщиков медицинских услуг как мутация, которая наблюдалась у нирматрелвир-селектированных вирусов SARS-CoV-2 в культуре клеток. Также данная замена наблюдалась в комбинациях T21I+S144A и T21I+S144A+T304I [18].

В ряде исследований показано, что единичная аминокислотная замена в позиции 166 или в сочетаниях с другими заменами может вызвать устойчивость к нирматрелвиру в условиях *in vitro*. Например, Jochmans D. et al. установили 72-кратное увеличение IC50 и 51-кратное увеличение EC50 нирматрелвира при наличии тройной замены L50F+E166A+L167F в области протеазы вируса. Однако присутствие тройной замены привело к нарушению репликации вируса и в результате к сохранению лишь 5,3 % ферментативной активности по сравнению с вирусом дикого типа [19]. В другом исследовании Zhou Y. et al. показали, что двойная мутация L50F+E166V приводит к 80-кратному снижению восприимчивости к нирматрелвиру [20]. Важно отметить, что мутация E166V, помимо 100-кратного увеличения EC50 нирматрелвира, также обеспечивает перекрестную устойчивость к другому ингибитору протеазы – энситрелвиру. Однако эта мутация снижала репликативную способность вируса *in vitro*, которая восстанавливалась при наличии дополнительных замен T21I или L50F, без существенного влияния на лекарственную устойчивость [21]. Стоит также отметить, что мутации L50F и E166V были выявлены в вирусных изолятах, полученных от нескольких пациентов, получавших лечение препаратом паксловид [18]. В совокупности все описанные выше данные указывают на то, что E166 является горячей точкой для мутаций, обеспечивающих устойчивость к препаратам-ингибиторам основной протеазы.

При исследовании эффективности применения паксловида по отношению к возбудителю COVID-19 в условиях *in vitro* компанией Pfizer обнаружена еще одна потенциально клинически значимая мутация H172Y, которая вызвала 233-кратное снижение эффективности действующего вещества препарата – нирматрелвира и в то же время приводила к снижению ферментативной активности протеазы [18]. Наличие дополнительной замены Q189E обеспечило восстановление ферментативной активности с сохранением способности к репликации вируса в присутствии нирматрелвира [17].

Важным аспектом анализа возможного действия препаратов является анализ мутаций, характерных для отдельных генетических вариантов SARS-CoV-2. В исследованиях *in vitro*, выполненных Heilmann E. et al., было выявлено ряд замен – Y54C, G138S, L167F, Q192R и A194S, с которыми была связана устойчивость к ингибиторам Mpro – нирматрелвиру и GC376. Сочетание мутаций L167F/Q192R и Y54C/L167F с характерными для варианта Омикрон заменами F305L и P132H соответственно вызывает увеличение уровня резистентности к ингибиторам протеазы [16].

Исследование вариантов SARS-CoV-2 (на основе последовательностей, депонированных в базу данных GISAID по состоянию на 1 июля 2022 года) показало, что несколько встречающихся в природе вариантов Mpro уже проявляют устойчивость к нирматрелвиру и энситрелвиру. Самые высокие уровни резистентности, обусловленные наличием единичной аминокислотной замены, показали A173V для нирматрелвира (EC50 увеличивалась в 11,6 раза по сравнению с вирусом дикого типа) и M49L для энситрелвира (EC50 увеличивалась в 25,4 раза по сравнению с вирусом дикого типа) [22]. В аналогичном исследовании при оценке циркулирующих полиморфизмов активного сайта Mpro на основе данных секвенирования, доступных из базы данных последовательностей GISAID по состоянию на 20 декабря 2021 года, наибольший уровень резистентности к нирматрелвиру был характерен для вируса с заменами Q189K и G143S, показав 10- и 154-кратное увеличение значений EC50 по отношению к вирусу дикого

типа соответственно. Вирусы, несущие мутации M49I, G143S и R188S, продемонстрировали наибольшую устойчивость к энситрелвиру, показав 10-, 15- и 6-кратное увеличение значений EC50 по отношению к вирусу дикого типа соответственно [23].

Описанные выше данные свидетельствуют о широком распространении полиморфизмов Mpro SARS-CoV-2, которые могут оказывать потенциальное воздействие на применение противовирусных препаратов. В условиях расширения линейки препаратов могут появляться новые мутации или их сочетания, что требует проведения дальнейших исследований.

Обсуждение. Продолжается эволюция вируса SARS-CoV-2 с непрерывным появлением новых вариантов, ряд из которых обладает повышенной трансмиссивностью и/или способностью уклоняться от иммунного ответа. Опубликованные данные свидетельствуют о распространенности в вирусной популяции полиморфизмов, ряд из которых приводит к резистентности к противовирусным препаратам, действие которых направлено на ингибирование ферментов – RdRp и протеазы. Лекарственная резистентность к данным группам препаратов наблюдается как в условиях *in vitro*, так и при исследовании образцов, полученных от пациентов с опытом применения данных лекарственных средств. Наиболее уязвимой группой в отношении резистентности являются пациенты с длительным течением COVID-19.

Заключение. Представленные данные свидетельствуют о необходимости мониторинга на протяжении всего периода лечения для выявления мутаций резистентности. Продолжается разработка новых противовирусных препаратов и увеличивается количество пациентов, получающих ремдесивир и паксловид. Это в будущем будет способствовать увеличению уровня резистентности в популяции и указывает на необходимость расширения геномного надзора за SARS-CoV-2 с учетом полученных данных.

Литература

1. Yin, C. Genotyping coronavirus SARS-CoV-2: methods and implications / C. Yin // *Genomics*. – 2020. – Vol. 112, № 5. – P. 3588–3596.
2. Remdesivir and SARS-CoV-2: Structural requirements at both nsp12 RdRp and nsp14 exonuclease active-sites / A. Shannon, N. T. Le, B. Selisko [et al.] // *Antiviral Research*. – 2020. – Vol. 178. – P. 104793.
3. A cell-based assay to discover inhibitors of SARS-CoV-2 RNA dependent RNA polymerase / J. Zhao, S. Guo, D. Yi [et al.] // *Antiviral Research*. – 2021. – Vol. 190. – P. 105078.
4. A library of nucleotide analogues terminate RNA synthesis catalyzed by polymerases of coronaviruses that cause SARS and COVID-19 / S. Jockusch, C. Tao, X. Li [et al.] // *Antiviral Research*. – 2020. – Vol. 180. – P. 104857.
5. Ullrich, S. The SARS-CoV-2 main protease as drug target / S. Ullrich, C. Nitsche // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. – 2020. – Vol. 30, № 17. – P. 127377.
6. Chen, Y. W. Prediction of the SARS-CoV-2 (2019-nCoV) 3C-like protease (3CLpro) structure: virtual screening reveals velpatasvir, ledipasvir, and other drug repurposing candidates / Y. W. Chen, C.-P. B. Yiu, K.-Y. Wong // *F1000Research*. – 2020. – Vol. 9. – P. 129.
7. Global Genomic Analysis of SARS-CoV-2 RNA dependent RNA polymerase evolution and antiviral drug resistance / A. Mari, T. Roloff, M. Stange [et al.] // *Microorganisms*. – 2021. – Vol. 9, № 5. – P. 1094.
8. RNA-dependent RNA polymerase as a target for COVID-19 drug discovery / W. Zhu, C. Z. Chen, K. Gorshkov [et al.] // *SLAS Discovery: Advancing Life Sciences R&D*. – 2020. – Vol. 25, № 10. – P. 1141–1151.
9. Coronavirus susceptibility to the antiviral remdesivir (GS-5734) is mediated by the viral polymerase and the proofreading exoribonuclease / M. L. Agostini, E. L. Andres, A. C. Sims [et al.] // *mBio*. – 2018. – Vol. 9, № 2. – P. e00221-18. – DOI: 10.1128/mBio.00221-18.
10. Emerging RNA-dependent RNA polymerase mutation in a remdesivir-treated B-cell immunodeficient patient with protracted coronavirus disease 2019 / M. Martinot, A. Jary, S. Fafi-Kremer [et al.] // *Clinical Infectious Diseases*. – 2021. – Vol. 73, № 7. – P. e1762–1765. – DOI: 10.1093/cid/ciaa1474.
11. In vitro selection of remdesivir resistance suggests evolutionary predictability of SARS-CoV-2 / A. M. Szemiel, A. Merits, R. J. Orton [et al.] // *PLOS Pathogens*. – 2021. – Vol. 17, № 9. – P. e1009929. – DOI: 10.1371/journal.ppat.1009929.
12. De novo emergence of a remdesivir resistance mutation during treatment of persistent SARS-CoV-2 infection in an immunocompromised patient: a case report / S. Gandhi, J. Klein, A. Robertson [et al.] // *Nature Communications*. – 2022. – Vol. 13, № 1. – P. 1547.
13. Remdesivir resistance in transplant recipients with persistent coronavirus disease 2019 (COVID-19) / J. I. Hogan, R. Duerr, D. Dimartino [et al.] // *Clinical Infectious Diseases*. – 2022. – Vol. 76, № 2. – P. 342–345.

14. Mutations in the SARS-CoV-2 RNA-dependent RNA polymerase confer resistance to remdesivir by distinct mechanisms / L. J. Sevens, A. J. Pruijssers, H. W. Lee [et al.] // *Science Translational Medicine*. – 2022. – Vol. 14, № 656. – P. eabo0718. – DOI: 10.1126/scitranslmed.abo0718.

15. Characterization of various remdesivir-resistant mutations of SARS-CoV-2 by mathematical modeling and molecular dynamics simulation / S. Torii, K. S. Kim, J. Koseki [et al.] // *bioRxiv*. – 2022. – URL: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2022.02.22.481436v1> (date of access: 01.02.2023).

16. SARS-CoV-2 3CLpro mutations selected in a VSV-based system confer resistance to nirmatrelvir, ensitrelvir, and GC376 / E. Heilmann, F. Costacurta, S. A. Moghadas [et al.] // *Science Translational Medicine*. – 2023. – Vol. 15, № 678. – DOI: 10.1126/scitranslmed.abq7360.

17. Naturally occurring mutations of SARS-CoV-2 main protease confer drug resistance to nirmatrelvir / Y. Hu, E. M. Lewandowski, H. Tan [et al.] // *ACS Central Science*. – 2023. – Vol. 9, № 8. – P. 1658–1669.

18. Fact sheet for healthcare providers: emergency use authorization for PAXLOVID™. – URL: <https://www.fda.gov/media/155050/download> (date of access: 01.02.2023).

19. The substitutions L50F, E166A and L167F in SARS-CoV-2 3CLpro are selected by a protease inhibitor in vitro and confer resistance to nirmatrelvir / D. Jochmans, C. Liu, K. Donckers [et al.] // *mBio*. – 2023. – Vol. 14, № 1. – P. e0281522. – DOI: 10.1128/mbio.02815-22.

20. Nirmatrelvir-resistant SARS-CoV-2 variants with high fitness in an infectious cell culture system / Y. Zhou, K. A. Gammeltoft, L. A. Ryberg [et al.] // *Science Advances*. – 2022. – Vol 8, № 51. – DOI: 10.1126/sciadv.add7197.

21. Multiple pathways for SARS-CoV-2 resistance to nirmatrelvir / S. Iketani, H. Mohri, B. Culbertson [et al.] // *Nature*. – 2023. – Vol. 613, № 7944. – P. 558–564.

22. Transmissible SARS-CoV-2 variants with resistance to clinical protease inhibitors / S. A. Moghadas, E. Heilmann, A. M. Khalil [et al.] // *Science Advances*. – 2023. – Vol 9, № 13. – DOI: 10.1126/sciadv.ade8778.

23. Structural basis of nirmatrelvir and ensitrelvir activity against naturally occurring polymorphisms of the SARS-CoV-2 main protease / G. D. Noske, E. de Souza Silva, M. O. de Godoy [et al.] // *The Journal of Biological Chemistry*. – 2023. – Vol. 299, № 3. – P. 103004. – DOI: 10.1016/j.jbc.2023.103004.

Kasko A. D., Bulda K. U., Bunas A. S., Gasich E. L.

MUTATIONS IN THE SARS-CoV-2 VIRUS GENOME RELATED TO POTENTIAL RESISTANCE TO DIRECT-ACTING ANTIVIRAL AGENTS

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

Antiviral drugs used to treat COVID-19 include inhibitors of the most conserved and essential enzymes of the virus, mainly the core protease and RNA polymerase. The presence of mutations E796G, C799F, E802D, D484Y, F480L and F480L/V557L in NSP12 has been shown to reduce the sensitivity of the virus to remdesivir therapy. Substitutions in amino acid residues S144, M165, E166, H172 and Q192 in the active binding site of nirmatrelvir in NSP5, lead to inhibition of the action of this drug. Understanding the mechanisms of drug resistance is the basis for determining the strategy and tactics of antiviral drugs in the treatment of drug-resistant variants of SARS-CoV-2 virus, and preventing the severe course and lethal outcome of the disease.

Keywords: mutations, protease, antiviral therapy, resistance, RNA-dependent RNA polymerase, COVID-19, SARS-CoV-2.

References

1. Yin C. Genotyping coronavirus SARS-CoV-2: methods and implications. *Genomics*. 2020;112(5): 3588–96.
2. Shannon A., Le N. T., Selisko B. et al. Remdesivir and SARS-CoV-2: Structural requirements at both nsp12 RdRp and nsp14 Exonuclease active-sites. *Antiviral Res.* 2020; 178: 104793.
3. Zhao J., Guo S. S., Yi D. et al. A cell-based assay to discover inhibitors of SARS-CoV-2 RNA dependent RNA polymerase. *Antiviral Res.* 2021; 190: 105078.
4. Jockusch S., Tao C., Li X. et al. A library of nucleotide analogues terminate RNA synthesis catalyzed by polymerases of coronaviruses that cause SARS and COVID-19. *Antiviral Res.* 2020; 180: 104857.
5. Ullrich S., Nitsche C. The SARS-CoV-2 main protease as drug target. *Bioorg Med Chem Lett.* 2020; 30 (17): 127377.
6. Chen Y. W., Yiu C.-P.B., Wong K.-Y. Prediction of the SARS-CoV-2 (2019-nCoV) 3C-like protease (3CLpro) structure: virtual screening reveals velpatasvir, ledipasvir, and other drug repurposing candidates. *F1000Res.* 2020; 9: 129.

7. Mari A., Roloff T., Stange M. et al. Global genomic analysis of SARS-CoV-2 RNA dependent RNA polymerase evolution and antiviral drug resistance. *Microorganisms*. 2021; 9(5): 1094.
8. Zhu W., Chen C. Z., Gorshkov K. et al. RNA-Dependent RNA polymerase as a target for COVID-19 drug discovery. *SLAS Discov*. 2020; 25(10): 1141–51.
9. Agostini M. L., Andres E. L., Sims A. C. et al. Coronavirus susceptibility to the antiviral remdesivir (GS-5734) is mediated by the viral polymerase and the proofreading exoribonuclease. *mBio*. 2018; 9(2): e00221-18. DOI: 10.1128/mBio.00221-18.
10. Martinot M., Jary A., Fafi-Kremer S. et al. Emerging RNA-dependent RNA Polymerase Mutation in a Remdesivir-Treated B-cell Immunodeficient Patient With Protracted Coronavirus Disease 2019. *Clin Infect Dis*. 2021; 73(7): e1762—5. DOI: 10.1093/cid/ciaa1474.
11. Szemiel A. M., Merits A., Orton R. J. et al. In vitro selection of remdesivir resistance suggests evolutionary predictability of SARS-CoV-2. *PLOS Pathog*. 2021; 17(9): e1009929. DOI: 10.1371/journal.ppat.1009929.
12. Gandhi S., Klein J., Robertson A. et al. De novo emergence of a remdesivir resistance mutation during treatment of persistent SARS-CoV-2 infection in an immunocompromised patient: a case report. *Nature Communications*. 2022; 13(1): 1547.
13. Hogan J. I., Duerr R., Dimartino D. et al. Remdesivir resistance in transplant recipients with persistent coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Clin Infect Dis*. 2023; 76(2): 342–5.
14. Stevens L. J., Puijssers A. J., Lee H. W. et al. Mutations in the SARS-CoV-2 RNA-dependent RNA polymerase confer resistance to remdesivir by distinct mechanisms. *Sci Transl Med*. 2022; 14(656): eabo0718. DOI: 10.1126/scitranslmed.abo0718.
15. Torii S., Kim K. S., Koseki J. et al. Characterization of various remdesivir-resistant mutations of SARS-CoV-2 by mathematical modeling and molecular dynamics simulation. *bioRxiv*. 2022. Available at: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2022.02.22.481436v1> (accessed 01 February 2023).
16. Heilmann E., Costacurta F., Moghadasi S. A. et al. SARS-CoV-2 3CLpro mutations selected in a VSV-based system confer resistance to nirmatrelvir, ensitrelvir, and GC376. *Sci Transl Med*. 2023; 15(678). DOI: 10.1126/scitranslmed.abq7360.
17. Hu Y., Lewandowski E. M., Tan H. et al. Naturally occurring mutations of SARS-CoV-2 main protease confer drug resistance to nirmatrelvir. *ACS Cent Sci*. 2023; 9(8): 1658–69.
18. Fact sheet for healthcare providers: emergency use authorization for PAXLOVID™ Available at: <https://www.fda.gov/media/155050/download> (accessed 01 February 2023).
19. Jochmans D., Liu C., Donckers K. et al. The substitutions L50F, E166A and L167F in SARS-CoV-2 3CLpro are selected by a protease inhibitor in vitro and confer resistance to nirmatrelvir. *mBio*. 2023; 14(1): e0281522. DOI: 10.1128/mbio.02815-22.
20. Zhou Y., Gammeltoft K. A., Ryberg L. A. et al. Nirmatrelvir-resistant SARS-CoV-2 variants with high fitness in an infectious cell culture system. *Sci Adv*. 2022; 8(51). DOI: 10.1126/sciadv.add7197.
21. Iketani S., Mohri H., Culbertson B. et al. Multiple pathways for SARS-CoV-2 resistance to nirmatrelvir. *Nature*. 2023; 613(7944): 558–64.
22. Moghadasi S. A., Heilmann E., Khalil A. M. et al. Transmissible SARS-CoV-2 variants with resistance to clinical protease inhibitors. *Science Advances*. 2023; 9(13). DOI: 10.1126/sciadv.ade8778.
23. Noske G. D., de Souza Silva E., de Godoy M.O. et al. Structural basis of nirmatrelvir and ensitrelvir activity against naturally occurring polymorphisms of the SARS-CoV-2 main protease. *J of Biol Chem*. 2023; 299(3): 103004.

e-mail для переписки: kosko.ad@gmail.com

Поступила 03.10.2024

Счесленок Е. П., Семижон П. А., Владыко А. С., Дубков Н. А., Семенов С. Ф., Климович О. В.,
Фомина Е. Г., Булда К. Ю., Гасич Е. Л., Шмельёва Н. П., Дронина А. М.

ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗОЛЯТА ВИРУСА SARS-COV-2, ВЫДЕЛЕННОГО В ПЕРИОД ПАНДЕМИИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

*Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии
и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь*

Аннотация. В настоящем исследовании с использованием культуральных, иммунохимических и молекулярно-биологических методов дана характеристика изолята SARS-CoV-2/7763, выделенного из секционного материала (легкие и трахея) пациента с установленным диагнозом коронавирусной инфекции COVID-19, согласно требованиям, предъявляемым к штаммам микроорганизмов, предназначенным для получения на их основе биопрепаратов. На основании полученных результатов исследования данный изолят депонирован в Республиканскую коллекцию патогенных биологических агентов в качестве кандидатного штамма для получения прототипного варианта вакцины. Получен паспорт РКПБА-2021-413 от 27.12.2021. Получено решение от 02.08.2024 Национального центра интеллектуальной собственности Республики Беларусь о выдаче патента на изобретение «Штамм коронавируса *Betacoronavirus* SARS-CoV-2 РКПБА-2021-413 для производства вакцины» по заявке № а20220207 от 22.08.2022.

Ключевые слова: изолят вируса SARS-CoV-2, COVID-19, культуральные, иммунохимические, молекулярно-биологические методы исследования, депонирование.

Введение. В конце 2019 года мир столкнулся с серьезной проблемой – вспышкой в Китае новой коронавирусной инфекции, вызванной штаммом SARS-CoV-2, которая лавинообразно распространилась на другие страны и переросла в пандемию COVID-19. Пандемия, вызванная новой коронавирусной инфекцией, начавшаяся вспышкой заболеваемости вирусом SARS-CoV-2 в Ухане, стала серьезной проблемой для здравоохранения и экономики всех стран [1]. Высокая степень контагиозности вируса, обуславливающая эффективную передачу от человека к человеку, явилась в конечном итоге причиной возникновения новой пандемии. Сложившаяся ситуация вызвала пристальный интерес мирового научного сообщества к изучению возбудителя COVID-19, его биологических свойств, механизмов патогенеза, филогении и особенностей течения заболевания у различных групп пациентов [2].

В рамках реагирования на вспышку коронавирусной инфекции COVID-19 ВОЗ активизировала работу Программы научных исследований, в задачи которой входит ускоренная разработка средств диагностики, вакцин и лекарственных средств, предназначенных для борьбы с новым коронавирусом [1]. Важнейшими этапами в технологии изготовления вакцин являются выбор производственного штамма и наиболее экономически эффективного метода его культивирования [3]. Изучение циркулирующих вариантов вируса, выделение возбудителя на культуре чувствительных клеток, анализ состава вирусного антигена и изучение антигенности отдельных вирусных белков в зависимости от геноварианта вируса как в научном, так и прикладном плане является актуальным направлением для разработки диагностических и профилактических средств.

Цель работы – характеристика изолята SARS-CoV-2, выделенного от пациента в период пандемии коронавирусной инфекции, и депонирование его в Республиканскую коллекцию патогенных биологических агентов в качестве кандидатного штамма для получения прототипного варианта вакцины.

Материалы и методы. Изолят коронавируса SARS-CoV-2, № 7763 (SARS-CoV-2/7763), выделен из аутопсийного материала (легкие и трахея), взятого 01.12.2020 от пациента с установленным диагнозом коронавирусной инфекции COVID-19. Выделение вируса осуществлялось в культуре клеток почки африканской зеленой марышки Vero E6 [4]. Клетки Vero E6 выращивались на питательной среде ДМЕМ с добавлением 10 % инактивированной сыворотки эмбрионов коров (далее – СЭК) и антибиотика (гентамицин в количестве 50 мкг/мл среды). Культивирование вируса проводили в термостате при температуре +37 °С до проявления цитопатического действия (далее – ЦПД), составляющего 70–80 % (изменение морфологии клеток и их отделение от стенки флакона и выход в культуральную жидкость). Для культивирования использовали среду поддержки ДМЕМ, содержащую 2 % СЭК и гентамицин (0,24 мг/мл).

Определение инфекционной активности вируса по ЦПД проводили микрометодом на 96-луночных культуральных планшетах с клетками Vero E6 (посевная доза 20 000–25 000 на лунку) с использованием

восьми параллельных рядов. Подготовленный планшет помещали в CO₂-инкубатор при 37 °С и 5 % CO₂. Результаты титрования учитывали в течение 4–5 суток инкубирования по проявлению цитопатического действия. Инфекционный титр вируса выражали в TCID₅₀/мл (50%-я тканевая цитопатическая доза), расчет его титра – по методу, предложенному Spearman-Kärber [5].

Выделение вирусной РНК для исследования методом ОТ-ПЦР осуществляли с использованием коммерческого набора реагентов для одновременного выделения ДНК и РНК из биологического материала методом преципитации «НК ЭКСТРА» (производства РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Беларусь). Постановку ОТ-ПЦР проводили с помощью коммерческой тест-системы «АртТест COVID-19» (производства АртБиоТех, Беларусь).

Для лиофилизации вируса использовали стабилизирующий состав, содержащий следующие компоненты: мальтоза 40 г/л культуральной вирусной суспензии (далее – КВС), пептон 70 г/л КВС, желатин 15 г/л КВС, бычий сывороточный альбумин 20 г/л КВС, тиосульфат натрия 2 г/л КВС. Двукратный стабилизирующий раствор смешивали с равным объемом вирусосодержащей жидкости и вносили по 2 мл в подготовленные стерильные пенфлаконы, которые перекрывали вакуумными пробками. Затем подготовленный материал подвергали глубокой заморозке в низкотемпературном морозильнике при минус 70 °С не менее 24 ч. После этого проводили лиофилизацию на вакуумной сушке EDWARDS следующим образом: лиофилизация (без подогрева) в течение 18 ч на минус 60 °С – минус 40 °С; лиофилизация с подогревом (сублимация) до плюс 40 °С в течение 1 ч на минус 60 °С – минус 40 °С; вакуумная укупорка (вакуум 10-1 mbar); завальцовка металлическими колпачками.

Инактивацию вируса проводили с использованием коммерческого препарата β-Propiolactone (33672.01, Serva) в конечной концентрации 0,05%. Очистку инактивированного и концентрированного препарата вируса осуществляли методом двухступенчатой хроматографии с использованием жидкостного хроматографа NGC Discover (Bio-Rad, США) [6]. Электрофоретический анализ инактивированного, концентрированного и очищенного вирусного антигена в полиакриламидном геле (далее – ПААГ) проводили по методу Laemmli [7]. Концентрация разделяющего геля составляла 12 %, фокусирующего – 6 %. Электрофорез проводили при напряжении 150 V и силе тока 150-200 мА в течение 1,5 ч. После окончания электрофореза гель окрашивали раствором Кумасси R-250.

Оценку антигенных свойств изолята SARS-CoV-2/7763 проводили методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческой тест-системы «Набор реагентов для количественного выявления S-антигена нового коронавируса человека SARS-CoV-2 в культуральных образцах методом иммуноферментного анализа «БиоСкан-SARS-CoV-2 (S)» (производства Российская Федерация).

Образец плазмы крови человека № 1747867 (содержащий специфические антитела – титр IgG к SARS-CoV-2 более 40000,0 AU/ml), полученный из ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий», использовали для подтверждения специфической активности изолята SARS-CoV-2/7763 с помощью реакции нейтрализации на клетках Vero E6 [8].

Титр (вируснейтрализующих антител, содержащихся в образце сыворотки) рассчитывали согласно формуле Кербера (1):

$$\log_2 \text{ Титра} = L - d (S - 0,5), \quad (1)$$

где L – \log_2 наименьшего разведения в опыте;

d – разница между \log_2 соседних разведений;

S – сумма пропорций положительных тест-единиц, т. е. культур с ЦПД в каждом разведении.

Поиск генетического материала респираторных вирусных патогенов проводили с использованием диагностических наборов «ФЛУ-ген», «ОРВИ-ген», «КОРОНА-ген», (производства РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Беларусь). Для проведения реакции обратной транскрипции использовали набор реагентов для получения кДНК на матрице РНК «РЕВЕРТАЗА–М-MuLV-50» (производства РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Беларусь).

Анализ полногеномной нуклеотидной последовательности методом NGS секвенирования проводили для подтверждения видовой принадлежности и определения геноварианта изолята. С использованием 99 пар праймеров был амплифицирован и секвенирован ДНК-фрагмент размером порядка 30 000 п. о. Для подготовки библиотек ДНК для секвенирования использовали набор реагентов «Ligation Sequencing kit 1D» (SQK-LSK109) компании «Oxford Nanopore Technologies» (Великобритания) и реактивы «NEBNext FFPE Repair Mix (M6630)», «NEBNext End repair / dA-tailing Module» (E7546), «NEBNext Quick Ligation Module» (E6056) компании «New England Biolabs» (США), а также магнитные частицы «AMPure

XP» компании «Beckman Coulter Life Sciences» (Германия). Секвенирование выполнено на приборе MinION (Oxford Nanopore Technologies (Великобритания). Анализ полученных данных осуществляли с помощью биоинформатического программного обеспечения kromsatel [<https://github.com/masikol/kromsatel>] – инструмент для разделения «сырых» прочтений на не-химерные фрагменты в соответствии со схемой праймеров, описанной в протоколе ARTIC V3; Bowtie2 – программа для выравнивания полученных нуклеотидных последовательностей относительно референсного файла; samtools и bcftools – программные пакеты для обработки файлов выравнивания и формирования консенсусной последовательности.

Результаты и их обсуждение. Согласно общепринятым требованиям (правила Будапештского договора о международном признании депонирования микроорганизмов для целей патентной процедуры (1981), документы Европейской организации по экономическому и социальному развитию (GENERAL GUIDELINES FOR ALL BRCS, 2006, GUIDANCE FOR THE OPERATION OF BIOLOGICAL RESOURCE CENTRES (Part2: Micro-Organism Domain), 2006; OECD Best Practice Guidelines for BRCS 2007)), предъявляемым к штаммам микроорганизмов, предназначенным для получения на их основе биопрепаратов, депонируемый штамм должен быть охарактеризован и соответствовать ряду параметров:

- обладать способностью культивироваться *in vitro* или в организме естественно восприимчивых животных (эмбрионов птиц) без изменения исходных биологических свойств в течение не менее 10 пассажей;
- по своей антигенной структуре максимально соответствовать возбудителю инфекции, для борьбы с которой будет использоваться изготовленный на его основе биопрепарат;
- быть представленным на депонирование в лиофилизированном или замороженном (криоконсервированном) состоянии;
- иметь подтверждение его видовой принадлежности.

Для оценки стабильности и репродуктивной способности изолята коронавируса SARS-CoV-2/7763 проведено 10 последовательных пассажей на культуре клеток линии Vero E6. На рисунке 1 представлены результаты изменения титра вируса на протяжении десяти последовательных пассажей.

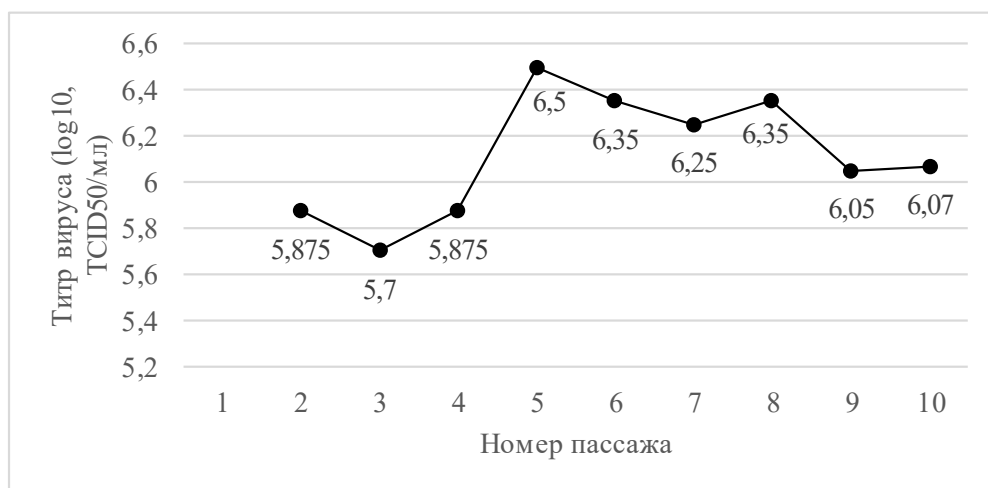
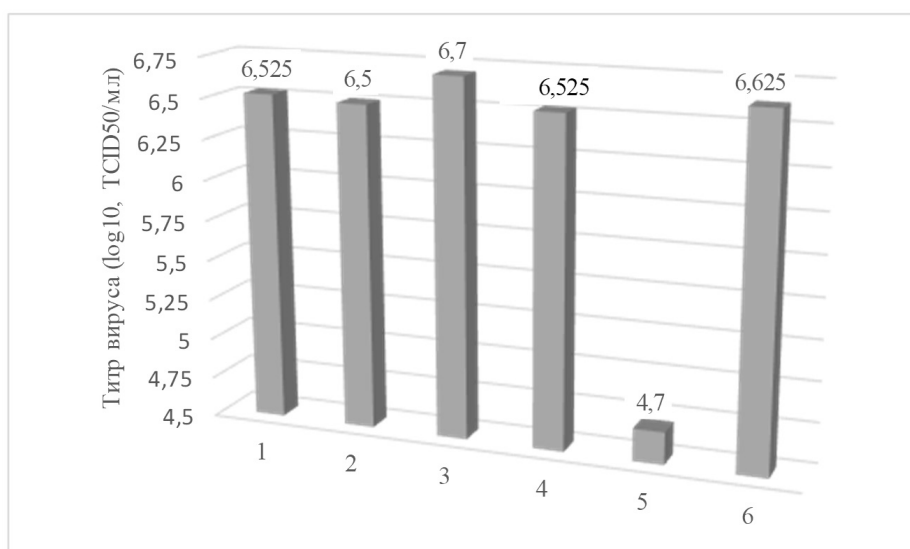


Рисунок 1 – Изменение титра вируса SARS-CoV-2 /7763 на протяжении десяти последовательных пассажей

Наиболее высокий показатель титра вируса достигался к пятому пассажу и составлял 6,5 lg TCID₅₀/мл. Незначительное снижение показателей инфекционной активности вируса к 10 пассажу свидетельствует о сохранении репродуктивной способности вируса при проведении последовательных пассажей. В дальнейшем для накопления вирусного материала в культуре клеток использовали вирус SARS-CoV-2/7763 с максимальным показателем титра, полученным на пятом пассаже культивирования.

Проведена оценка сохранности нативных свойств вирусных частиц (способность инфицировать клетки) в процессе длительного хранения вируса. В условиях постановки эксперимента вируссодержащая жидкость изолята коронавируса SARS-CoV-2/7763 (исходный титр 10^{6,525} TCID₅₀/мл) была разделена на две части: одну часть поместили на криохранилище при минус 70 °С, вторая часть была использована

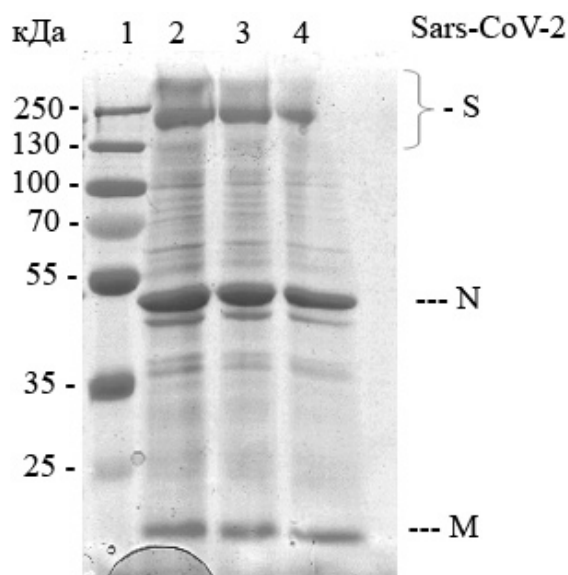
для получения лиофилизированного препарата. Известно, что хранение препарата в виде лиофилизированного продукта гарантирует долговременную стабильность, способность сохранять исходные характеристики при восстановлении, включая свойства раствора, структуру и конформацию белков, дисперсность частиц в суспензии. Как известно, для предохранения белков во время лиофилизации используются наполнители (бычий сыворочный альбумин) и дисахариды (сахароза, микоза), образующие аморфную стеклообразную структуру. Глюкоза, лактоза и мальтоза являются восстанавливающими сахарами и могут восстанавливать белки посредством реакции Майяра (реакция сахароаминой конденсации). Первоначально для лиофилизации вирусного материала в качестве стабилизирующего состава были использованы следующие компоненты в конечной концентрации – 20 % инактивированная СЭК, 10 % сахароза. Лиофильно высушенный вирусный материал был помещен на хранение при 2–8 °С. Титр вируса после лиофилизации составил $10^{5,825}$ TCID₅₀/мл, что почти на порядок ниже от исходного, но в пределах минимально допустимого при вакуумной сушке. Через 5 месяцев хранения титры вируса, помещенного на криохранилище, и вируса, восстановленного после лиофилизации, составили $10^{6,5}$ TCID₅₀/мл и $10^{5,525}$ TCID₅₀/мл соответственно. Показано, что вирус, помещенный на криохранилище, сохраняет инфекционную активность (титр $10^{6,5}$ TCID₅₀/мл), и в результате проведения двух последовательных пассажей на культуре клеток Vero E6 титр восстановленного вируса незначительно превышает исходное значение ($10^{6,7}$ TCID₅₀/мл). В то же время проведение двух последовательных пассажей на культуре клеток Vero E6 не позволило поднять титр восстановленного после лиофилизации вируса до исходных значений. В связи с этим для лиофилизации вируса использовали стабилизирующий состав, содержащий компоненты, способствующие лучшему восстановлению вируса: мальтоза, пептон, желатин, ВСА, тиосульфат натрия. В процессе лиофилизации исходный титр вируса ($10^{6,525}$ TCID₅₀/мл) значительно понизился ($10^{4,7}$ TCID₅₀/мл). Однако после восстановления и проведения одного пассажа на культуре клеток Vero E6 он составил $10^{6,625}$ TCID₅₀/мл, что даже превысило исходный показатель. Таким образом, в результате проведенных исследований был подобран оптимальный стабилизирующий состав для проведения вакуумной сушки вирусного материала. На рисунке 2 показана сохранность нативных свойств вирусных частиц в виде лиофилизированного препарата и при криохранилище (минус 70 °С).



- 1, 4 – титр исходной вирусосодержащей жидкости изолята SARS-CoV-2/7763;
- 2 – титр вируса после размораживания (криохранилище);
- 3 – титр вируса после двух пассажей на клетках Vero E6 (криохранилище);
- 5 – титр вируса после лиофилизации;
- 6 – титр восстановленного после лиофилизации вируса, прошедшего один пассаж на клетках Vero E6.

Рисунок 2 – Определение показателей инфекционной активности вирусного материала SARS-CoV-2/7763 в процессе криохранилища и лиофилизации

Для идентификации основных вирусных антигенов проводили ПААГ-электрофорез вирусного материала SARS-CoV-2/776, инактивированного химическим способом (0,05% бетапропиолактон) и сконцентрированного методом ультрафильтрации. На рисунке 3 представлены результаты электрофоретического анализа основных вирусных антигенов.



Дорожки: 1 – Маркер молекулярного веса 150 кДа;
 2 – конц. 7763 от 14.06.2021 на PBS;
 3 – конц. 7763 от 11.06.2021 на PBS;
 4 – конц. 7763 от 11.06.2021 на STE.

Рисунок 3 – Электрофоретический анализ концентрированного вирусного материала SARS-CoV-2/7763

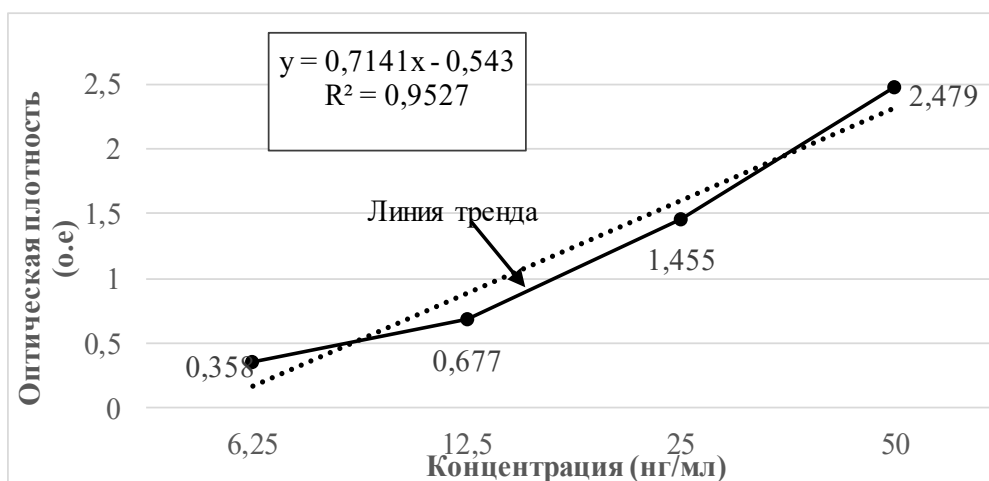
Как видно из представленного рисунка, при анализе состава вирусного антигена методом ПААГ-электрофореза идентифицируются основные вирусные белки: N – с распределением в области 50 кДа, три формы белка S – с распределением в области от ≈ 100 до ≈ 300 кДа, и M – с распределением в области 17–18 кДа.

Оценку антигенных свойств вируса SARS-CoV-2/7763 проводили методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческой тест-системы «БиоСкан-SARS-CoV-2 (S)». Количество S-белка (нг/мл) рассчитывали по показателю оптической плотности образца в соответствии со шкалой оптической плотности, полученной на стандартных образцах (6,25 нг/мл, 12,5 нг/мл, 25 нг/мл и 50 нг/мл) тест-системы в виде калибровочной прямой. В результате проведенных исследований методом ИФА показано, что изолят SARS-CoV-2/7763 содержит S-антиген нового коронавируса человека SARS-CoV-2. Концентрация S-белка в препарате данного изолята коронавируса составила 75,701 нг/мл (рисунок 4).

Показана способность вирусных антигенов анализируемого изолята взаимодействовать со специфическими антителами (плазма крови человека, содержащая иммуноглобулины G к SARS-CoV-2). Титр нейтрализующих антител к вирусу SARS-CoV2/7763 составил 1 : 724.

Метод ОТ-ПЦР в режиме «реального времени» был использован для оценки контаминации изолята SARS-CoV-2/7763 другими патогенами, вызывающими респираторные инфекции: вирусами гриппа типа А и В, аденовирусом и бокапарвовирусом, респираторно-синцитиальным (РС) вирусом, метапневмовирусом, риновирусом, вирусом парагриппа (ПГ 1-4), коронавирусами HKU1, NL63, 229E, Beta CoV1. Параллельно изолят SARS-CoV-2/7763 был анализирован в ОТ-ПЦР по гену E нового коронавируса человека SARS-CoV-2: значение порогового цикла Ct составило 13 для SARS-CoV-2/7763. В результате проведенных исследований подтверждена принадлежность анализируемого изолята к коронавирусу SARS-CoV-2, доказано отсутствие контаминации его другими вирусными патогенами, вызывающими респираторные инфекции.

Коронавирус SARS-CoV-2 – это оболочечный одноцепочный (+) РНК-вирус, относящийся к подроду *Sarbecovirus* рода *Betacoronavirus*. длина РНК-последовательности составляет около 30 000 нуклеотидов [9]. Для подтверждения видовой специфичности и генетической принадлежности изолята SARS-CoV-2/7763 было выполнено его полногеномное секвенирование. С использованием 99 пар праймеров был амплифицирован и секвенирован ДНК-фрагмент размером порядка 30 000 п. о., анализ которого с помощью базы данных GISAID показал принадлежность изолята SARS-CoV-2/7763 к генетическому варианту В.1.1.294. Анализируемая нуклеотидная последовательность депонирована в международную базу данных GISAID. Депонент № EPI_ISL_7999577.



Пробы	ОП	Пробы	Разв.	ОП	Концентрация
К+	3,369	Бланк		0,006	-
К+	3,448	Бланк		0,001	-
К-	0,044	Бланк		0,004	-
К-	0,044	к/к	0	0,035	-
6,25 нг/мл	0,358	к/к	0	0,037	-
12,5 нг/мл	0,677	7763	1/100	0,101	Н.О.
25 нг/мл	1,455		1/10	0,41	75,701 нг/мл
50 нг/мл	2,479		Исх	2,989	Н. О.

Примечания:
 1) ОП – оптическая плотность; 4) Бланк – пустая ячейка;
 2) К+ – положительный контроль; 5) к/к – контроль конъюгата;
 3) К- – отрицательный контроль; 6) Н. О. – не определяется.

Рисунок 4 – Количественная оценка S-белка изолята SARS-CoV-2/7763 методом ИФА

Заключение. В результате выполненных работ проведена оценка свойств и дана характеристика изолята SARS-CoV-2/7763 в соответствии с требованиями, предъявляемыми к штаммам микроорганизмов, предназначенных для получения на их основе биопрепаратов:

- подтверждена видовая специфичность, показано наличие генетического материала SARS-CoV-2, выполнено полногеномное секвенирование, что позволило отнести данный изолят к геноварианту B.1.1.294, его нуклеотидная последовательность депонирована в международную базу данных GISAID;

- подобрана перmissive линия клеток почки африканской зеленой мартышки Vero E6 для культивирования вируса;

- показана стабильность репродуктивной способности изолята коронавируса SARS-CoV-2/7763 на протяжении 10 последовательных пассажей на культуре клеток линии Vero E6;

- установлено соответствие изолята SARS-CoV-2/7763 по своей антигенной структуре возбудителю коронавирусной инфекции человека SARS-CoV-2, что подтверждено наличием основных вирусных белков – S, N, M;

- подтверждены антигенные свойства изолята SARS-CoV-2/7763: содержал основной вируснейтрализующий S-белок (антиген) нового коронавируса человека SARS-CoV-2, взаимодействовал со специфическими антителами плазмы крови человека, содержащей IgG к SARS-CoV-2.

Изолят SARS-CoV-2/7763 депонирован в Республиканскую коллекцию патогенных биологических агентов в качестве кандидатного штамма для получения прототипного варианта вакцины. Получен паспорт РКПБА-2021-413 от 27.12.2021. Получено решение от 02.08.2024 Национального центра интеллектуальной собственности Республики Беларусь о выдаче патента на изобретение «Штамм коронавируса *Betacoronavirus* SARS-CoV-2 РКПБА-2021-413 для производства вакцины» по заявке № а20220207 от 22.08.2022.

Сведения о НИР. НИР «Разработать методы получения очищенного и инактивированного препарата вируса SARS-CoV-2 как кандидата для создания вакцины», регистрационный номер 20212463.

Литература

1. Вступительное слово Генерального директора на пресс-брифинге по COVID-19 11 марта 2020 г. // Всемирная организация здравоохранения. – URL: <https://www.who.int/ru/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020> (дата обращения: 19.09.2021).
2. SARS-CoV-2: structure, biology, and structure-based therapeutics development / M. Y. Wang, R. Zhao, L. J. Gao [et al.] // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. – 2020. – Vol. 10. – P. 587269. – DOI: 10.3389/fcimb.2020.587269.
3. Князева, О. Р. Перспективы и трудности создания вакцин против COVID-19 / О. Р. Князева, А. Е. Гончаров // *Медицинские новости*. – 2020. – № 12. – С. 4–7.
4. Assessment of SARS-CoV-2 infectivity of upper respiratory specimens from COVID-19 patients by virus isolation using VeroE6/TMPRSS2 cells / S. Yamada, S. Fukushi, H. Kinoshita [et al.] // *BMJ Open Respiratory Research*. – 2021. – Vol. 8, № 1. – P. e000830. – DOI: 10.1136/bmjresp-2020-000830.
5. Ramakrishnan, M. A. Determination of 50% endpoint titer using a simple formula / M. A. Ramakrishnan // *World Journal of Virology*. – 2016. – Vol. 5, № 2. – P. 85–86.
6. Выделение, идентификация и характеристика изолятов вируса SARS-CoV-2 / П. А. Семижон, Е. П. Счесленок, Н. А. Дубков [и др.] // *Биологическая безопасность Республики Беларусь: национальные интересы, угрозы стратегические направления обеспечения, оценка состояния* : тр. науч.-практ. конф., г. Минск, 8 дек. 2021 г. – [Опубл. в журн.] *Новости медико-биологических наук*. – 2021. – Т. 21, № 4. – С. 23–31.
7. Laemmli, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 / U. K. Laemmli // *Nature*. – 1970. – Vol. 227, № 5259. – P. 680–685.
8. Buscaglia, C. Cell-culture virus-neutralization test and enzyme-linked immunosorbent assay for evaluation of immunity in chickens against fowlpox / C. Buscaglia, R. A. Bankowski, L. Miers // *Avian Diseases*. – 1985. – Vol. 29, № 3. – P. 672–680.
9. Новикова, И. А. Генетическая характеристика вируса SARS-CoV-2 / И. А. Новикова // *Живые и биосистемы*. – 2021 – № 35. – URL: <https://jbks.ru/archive/issue-35/article-4> (дата обращения: 19.09.2024).

Scheslenok E. P., Semizhon P. A., Vladyko A. S., Dubkov N. A., Semyonov S. F., Klimovich O. V., Fomina E. G., Bulda K. Y., Gasich E. L., Shmeleva N. P., Dronina A. M.

CHARACTERIZATION OF THE SARS-COV-2 VIRUS ISOLATE OBTAINED DURING THE CORONAVIRUS PANDEMIC

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

In the presented research using cultural, immunochemical and molecular biological methods the characteristic of the SARS-CoV-2/7763 virus isolate is given. The isolate was obtained from the autopsy material (lungs and trachea) of a patient with confirmed COVID-19 diagnosis. The characteristic is given according to the requirements, made for the microorganisms' strain-producers of the biologics. On the basis of the received results this isolate has been deposited into the Republican Collection of Pathogenic Biological Agents as the candidate strain for the vaccine prototype production. The registration certificate РКПБА-2021-413 of 27.12.2021 has been obtained. A decision of the National Center for Intellectual Property of the Republic of Belarus to grant a patent for the invention «Coronavirus strain Betacoronavirus SARS-CoV-2 RKPBA-2021-413 for vaccine production» was received on 08/02/2024 under application no. a20220207 dated 08/22/2022.

Keywords: SARS-CoV-2 virus isolate, COVID-19, cultural, immunochemical and molecular biological research methods.

References

1. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 – 11 March 2020. In: World Health Organization. Available at: <https://www.who.int/ru/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020> (accessed 19 September 2021).
2. Wang M. Y., Zhao R., Gao L. J. et al. SARS-CoV-2: structure, biology, and structure-based therapeutics development. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020; 10: 587269. DOI: 10.3389/fcimb.2020.587269.
3. Kniazeva V. R., Hancharou A. Y. Prospects and difficulties of creating vaccines against COVID-19. *Med novosti*. 2020; 12: 4–7. (in Russian)

4. Yamada S., Fukushi S., Kinoshita H. et al. Assessment of SARS-CoV-2 infectivity of upper respiratory specimens from COVID-19 patients by virus isolation using VeroE6/TMPRSS2 cells. *BMJ Open Respir Res.* 2021; 8(1): e000830. DOI: 10.1136/bmjresp-2020-000830.

5. Ramakrishnan M. A. Determination of 50% endpoint titer using a simple formula. *World J Virol.* 2016; 5(2): 85–6.

6. Semizhon P. A., Scheslenok E. P., Dubkov N. A. et al. Isolation, identification and characteristics of SARS-CoV-2 virus isolates. In: *Biological Safety of the Republic of Belarus: national interests, threats, strategic areas of security, state assessment*: Tr. nauch.-prakt. konf., g. Minsk, 8 dek. 2021 g. In: *Novosti mediko-biologicheskikh nauk (News of Biomedical Sciences)*. 2021; 21(4): 23–31. (in Russian)

7. Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 1970; 227(5259): 680–5.

8. Buscaglia C., Bankowski R. A., Miers L. Cell-culture virus-neutralization test and enzyme-linked immunosorbent assay for evaluation of immunity in chickens against fowlpox. *Avian Dis.* 1985; 29(3): 672–80.

9. Novikova I. A. Genetic characteristics of the SARS-CoV-2. *Live Bio-Abiotic Syst.* 2021; 35. Available at: <https://jbks.ru/archive/issue-35/article-4> (accessed 19 September 2024). (in Russian)

e-mail для переписки: elena_pavlovna@tut.by

Поступила 30.09.2024

УДК 57.085.23:576.5

Фомина Е. Г., Григорьева Е. Е., Корень С. В., Зверко В. В.

АУТЕНТИФИКАЦИЯ КУЛЬТУР КЛЕТОК ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ: СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ

*Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии
и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь*

Аннотация. Отработан алгоритм аутентификации клеточных культур животного происхождения. На основании секвенирования фрагмента гена субъединицы 1 цитохром с - оксидазы проведена идентификация 20 культур клеток животного происхождения. Доказана принадлежность к определенному биологическому виду 19 из 20 исследованных культур. Подтверждена идентичность клеток Ma-104 виду *Chlorocebus pygerythrus* (карликовая зеленая мартышка), а не *Macaca mulatta* (макака-резус), как считалось ранее. В соответствии с требованиями международного стандарта ANSI/ATCC ASN-0003-2015, в практику коллекционной работы внедрено ДНК-баркодирование для установления видовой принадлежности клеточных культур животного происхождения.

Ключевые слова: культуры клеток животного происхождения, секвенирование, ген цитохром с - оксидазы, ДНК-баркодирование.

Введение. Клеточные культуры находят широкое применение в различных областях биологии и медицины для диагностики инфекционных заболеваний, производства иммунобиологических препаратов и вакцин, контроля качества лекарственных средств, разработки биомедицинских продуктов и технологий, а также проведения научных исследований.

Вопросам контроля подлинности используемых в исследованиях клеточных культур в настоящее время уделяется повышенное внимание. Ведущие международные издательства American Association for Cancer Research (AACR) Publications, Society for Endocrinology Journals, Endocrine Society Journals и Nature Publishing Group (NPG), а также такие журналы, как *BioTechniques*, *Cell Biochemistry and Biophysics*, *International Journal of Cancer*, *PLOS ONE*, *Journal of Carcinogenesis*, *Journal of Molecular Biology* и ряд других, сформулировали требования по предоставлению информации об аутентификации и чистоте используемых в исследовании клеточных культур [1]. Аналогичные рекомендации при рассмотрении заявок на финансирование научных исследований предъявляются и ведущими мировыми исследовательскими центрами [2].

Международным комитетом по идентификации клеточных линий (International Cell Line Authentication Committee, ICLAC) ведется реестр ошибочно идентифицированных культур клеток

(<https://iclac.org/databases/cross-contaminations>), который по данным на 16 января 2023 года насчитывает 582 наименования. Периодическое проведение аутентификации, включающей оценку подлинности, микробиологической чистоты и отсутствия кросс-контаминации клеточных культур, является обязательной практикой ведущих мировых коллекций.

До настоящего времени контроль видовой идентичности клеточных культур коллекции клеток человека и животных государственным учреждением «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья» осуществлялся на основании изоферментного и кариологического анализа. На данный момент требованием мирового научного сообщества является подтверждение подлинности культур клеток на уровне ДНК.

Для установления видовой принадлежности клеточных культур животного происхождения применяется ДНК-баркодирование (DNA barcoding) на основании 5'-концевого участка митохондриального гена субъединицы 1 цитохром с - оксидазы (CO1, cytochrome c oxidase subunit 1). Действующим международным нормативным документом, регламентирующим его проведение, является стандарт ANSI/ATCC ASN-0003-2015 «Species-level identification of animal cells through mitochondrial cytochrome c oxidase subunit 1 (CO1) DNA barcodes», разработанный Американским национальным институтом стандартов (American National Standards Institute, ANSI) вместе с ATCC (American Type Culture Collection) [3]. Тем не менее применение данного алгоритма требует адаптации методик в отношении доступной реагентной базы и имеющегося в наличии оборудования.

Цель работы – адаптация и внедрение соответствующих молекулярно-генетических методов для проведения видовой идентификации клеточных культур и приведения системы контроля качества коллекции в соответствие с имеющимися международными требованиями.

Материалы и методы.

1.1 Культивирование клеточных культур.

Монослойные клеточные культуры культивировали в среде ДМЕМ, содержащей 2 мМ L-глутамин, 10 % инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки, антибиотик гентамицин в количестве 40 мкг/мл среды в атмосфере 5 % CO₂ при температуре 37 °С. Пересев клеток осуществляли общепринятым методом. Для диссоциации клеток использовали 0,25 % раствор трипсина и 0,02 % раствор Версена в соотношениях 1 : 3. Клетки пересевали дважды в неделю по достижению монослоя на 3–4 сутки.

Суспензионные клеточные культуры выращивали в среде RPMI-1640, содержащей 2 мМ L-глутамин, 10 % инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки, антибиотик гентамицин в количестве 40 мкг/мл среды в атмосфере 5 % CO₂ при температуре 37 °С. Пересев осуществляли путем переноса необходимого количества суспензии клеток (1,0–2,0 × 10⁵ клеток/мл) в новый флакон со свежей ростовой средой.

1.2 Выделение ДНК из биологических образцов.

Для сравнительного анализа применяли коммерческие наборы реагентов GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific, США), E.A.Z.A. Nucleic Acid Purification Kit (Omega, США), Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega, США), ДНК-сорб-В (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Российская Федерация) согласно инструкции производителя.

1.3 Постановка полимеразной цепной реакции.

Постановку ПЦР осуществляли на термоциклере Quant Studio 5.0 (Applied Biosystems, США) с использованием олигонуклеотидов, синтезированных ОДО «Праймтех» (Республика Беларусь):

VF1d_t1 TGAAAACGACGGCCAGTTCTCAACCAACCACAARGAYATYGG,
VR1d_t1 CAGGAAACAGCTATGACTAGACTTCTGGGTGGCCRAARAAYCA,
LepF1_t1 TGAAAACGACGGCCAGTATTCAACCAATCATAAAGATATTGG,
LepR1_t1 CAGGAAACAGCTATGACTAACTTCTGGATGTCCAAAAAATCA.

Состав реакционной смеси: 10,0 мкл 5x Phusion HF buffer (Thermo Scientific, США), 1,0 мкл смеси дНТФ (10 мМ), по 5 пмоль праймеров VF1d, VR1d, LepF1, LepR1, 0,5 мкл Phusion Hot Start II High-Fidelity DNA polymerase (Thermo Scientific, США), 2 мкл матрицы (10 нг/мкл), деионизованная вода до конечного объема 50 мкл. Режим амплификации: 1 цикл – 98 °С – 30 с; 5 циклов – 98 °С – 10 с, 50 °С – 20 с, 72 °С – 30 с; 35 циклов – 98 °С – 10 с, 55 °С – 20 с, 72 °С – 30 с; 1 цикл – 72 °С – 10 мин.

1.4 Гель-электрофорез фрагментов ДНК.

Агарозный гель для разделения фрагментов ДНК готовили в 1x буфере TBE. Необходимое количество агарозы в 50 мл буфера нагревали до полного расплавления и охлаждали до 50 °С. Раствор агарозы заливали в камеру электрофорезного аппарата и помещали гребенку рядом с одним из концов геля. Оставляли гель на 1 ч при комнатной температуре для полимеризации. Из полимеризованного геля удаляли гребенку, а гель помещали в электрофорезную камеру, которую заполняли буфером TBE

(содержащим 0,5 мкг/мл бромистого этидия) так, чтобы слой буфера над гелем был толщиной 1 мм. Пробы ДНК смешивали в соотношении 6 к 1 с буфером для нанесения проб (0,25 % бромфеноловый синий «Sigma»); 40 % (вес/объем) сахароза в H₂O) и осторожно наслаивали в лунки. Разделение ДНК проводили при напряжении 5 В/см в течение 1 ч. Для анализа результатов электрофореза гель помещали на источник ультрафиолетового излучения. Сравнительную оценку размеров фрагментов ДНК и их относительной концентрации проводили визуально по отношению к маркерам молекулярных масс нуклеиновых кислот (GeneRuler 1000 bp Ladder; GeneRuler 100 bp Ladder, Thermo Scientific, США).

1.5 Очистка амплификата для секвенирования.

Очистку амплификатов с использованием наборов реагентов Нуклеосорб G (Праймтех, Республика Беларусь), Cleanup Standard (Евроген, Российская Федерация) проводили в соответствии с инструкцией производителя.

Для очистки фенол-хлороформным методом к амплификату добавляли $\frac{1}{10}$ часть 50 мМ Na₂EDTA, доводили объем до 100 мкл ТЕ-буфером. Добавляли равный объем смеси фенол-хлороформ, перемешивали на вортексе. Центрифугировали при 13 000 об/мин 2 мин. Верхнюю фазу переносили в новый эппендорф. Добавляли 4 мкл ТРНК, 0,1 объема ацетата натрия, 2,5 объема 96% этанола. Помещали на –20 °С на ночь. Центрифугировали 15 мин при 13 000 об/мин при +4 °С. Удаляли супернатант. Подсушивали осадок в термостате 5–7 мин, растворяли в 15 мкл воды.

1.6 Постановка секвенирующей реакции.

Секвенирование фрагментов ДНК проводили с использованием набора BrilliantDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Nimagen, Нидерланды) согласно прилагаемой инструкции. Электрофорез осуществляли на генетическом анализаторе ABI PRISM 3100-Avant (Applied Biosystems, США). Для обработки полученных нуклеотидных последовательностей использовали программное обеспечение CodonCode Aligner.

Результаты и их обсуждение. Для установления видовой принадлежности клеточной культуры требуется сравнительный анализ полученной в результате секвенирования консенсусной нуклеотидной последовательности участка гена CO1 с эталонными последовательностями глобальной базы данных BOLD «Species level barcodes» (http://www.boldsystems.org/index.php/IDS_OpenIdEngine), включающей ДНК-баркоды для более чем 240 000 видов живых организмов [4]. Для животных различий по CO1 внутри видов намного меньше, чем различий между видами, и в числовом выражении они составляют менее 1–2 %. Соответственно, 98–100 % идентичность последовательности анализируемого и референсного образцов доказывает принадлежность клеточной культуры к определенному биологическому виду. Для исследования использовались 20 перевиваемых клеточных культур, потенциально относящихся к 9 различным видам животных: *Chlorocebus aethiops* (африканская зеленая мартышка); *Chlorocebus pygerythrus* (карликовая зеленая мартышка); *Mus musculus* (мышь); *Bos taurus* (бык); *Sus scrofa* (свинья); *Rattus norvegicus* (крыса); *Canis lupus familiaris* (собака); *Oryctolagus cuniculus* (кролик); *Macaca mulatta* (макака-резус).

1. Получение высокоочищенного препарата ДНК.

Начальным этапом проведения исследований по видовой идентификации культур клеток животных является получение клеточной ДНК. Качество генетического материала, используемого для ДНК-профилирования, имеет решающее значение для последующих этапов анализа. Геномная ДНК клеточной культуры должна быть недеградированной с требуемыми показателями концентрации и чистоты (концентрация более 20 нг/мкл; соотношение A260/A280 от 1,8 до 2,0; отсутствие РНК в препарате). Для определения оптимального способа выделения генетического материала из клеточных культур и оценки соответствия качества полученной геномной ДНК необходимым требованиям было проведено сравнительное исследование с использованием ряда коммерческих наборов, основанных на различном принципе выделения нуклеиновых кислот: GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific, США), E.A.Z.A. Nucleic Acid Purification Kit (Omega, США), Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega, США), ДНК-сорб-В (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Российская Федерация). Для выделения каждым из наборов в качестве исходного материала использовали клеточную суспензию четырех культур различного тканевого происхождения (эпителиального и соединительнотканного) с концентрацией клеток 2×10^6 /мл, каждая из которых была разделена на равные аликвоты.

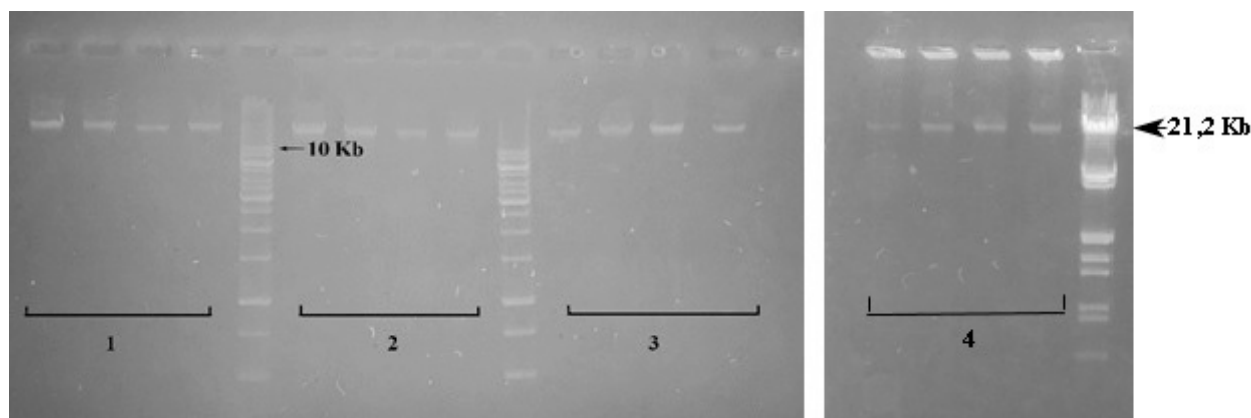
Для определения концентрации и степени чистоты препарата выделенной ДНК применяли спектрофотометрический анализ с использованием прибора Nano Photometer P330 (Implen, Германия). Для оценки чистоты препарата ДНК проводили измерение оптической плотности раствора при длинах волн 260 и 280 нм, что является максимумом поглощения растворов ДНК и белков, соответственно. Чистая ДНК, свободная от примесей белков, фенола или иных контаминирующих агентов, имеет значение A260/A280 в диапазоне 1,8–2,0. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Как видно из представленных данных, наборы, основанные на методе преципитации (GeneJET Genomic DNA Purification Kit, Wizard Genomic DNA Purification Kit), показали максимальные значения концентрации полученной ДНК и стабильно (в пределах группы образцов) высокое качество ее очистки.

Таблица 1 – Качественная и количественная характеристика геномной ДНК клеточных культур, выделенной различными наборами

Набор реагентов для выделения ДНК	Идентификационный номер образца	Концентрация ДНК, нг/мкл	Соотношение ОП A260:280
Wizard Genomic DNA Purification Kit (метод преципитации)	1-А	650,0	1,90
	2-А	470,2	1,88
	3-А	90,9	1,91
	4-А	292,8	1,88
E.A.Z.A. Nucleic Acid Purification Kit (колоночный метод)	1-Б	102,8	1,98
	2-Б	75,5	1,99
	3-Б	50,5	1,96
	4-Б	47,7	2,04
GeneJET Genomic DNA Purification Kit (преципитация NaCl)	1-В	114,5	1,83
	2-В	126,3	1,84
	3-В	38,5	1,87
	4-В	63,4	1,84
ДНК-сорб-В (сорбентный метод)	1-Г	11,6	2,10
	2-Г	17,4	2,01
	3-Г	15,4	2,02
	4-Г	25,6	2,23

Оценку отсутствия РНК в полученных препаратах геномной ДНК и ее целостности проводили методом гель-электрофореза в 0,8% агарозном геле (рисунок 1).



- 1 – Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega, США) (ДНК разведена в 5 раз);
- 2 – E.A.Z.A. Nucleic Acid Purification Kit (Omega, США);
- 3 – GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific, США);
- 4 – ДНК-сорб-В (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Российская Федерация).

Рисунок 1 – Электрофоретический анализ геномной ДНК, выделенной из клеточных культур с использованием различных наборов

Проведенный анализ показал, что обработка ферментом RNase A (Thermo Scientific, США) на этапе лизиса клеточного материала позволяет получить препарат геномной ДНК, не содержащей примесей рибонуклеиновых кислот. Нефрагментированная ДНК размером > 5 Kb была получена при выделении наборами GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific, США), E.A.Z.A. Nucleic Acid Purification Kit (Omega, США), Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega, США). При анализе образцов ДНК, выделенных с использованием набора ДНК-сорб-В, обращало на себя внимание присутствие достаточно большого количества флуоресцентного материала в лунках, что может быть обусловлено наличием белков, которые связываются с частью ДНК и препятствуют ее миграции в гель.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что наборы реагентов GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific, США), E.A.Z.A. Nucleic Acid Purification Kit (Omega, США), Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega, США) позволяют получить высокоочищенный препарат геномной ДНК требуемой концентрации. Максимальный выход нуклеиновых кислот с высокой степенью чистоты при минимальном затраченном времени на выделение обеспечивается при использовании набора Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega, США), основанного на методе преципитации.

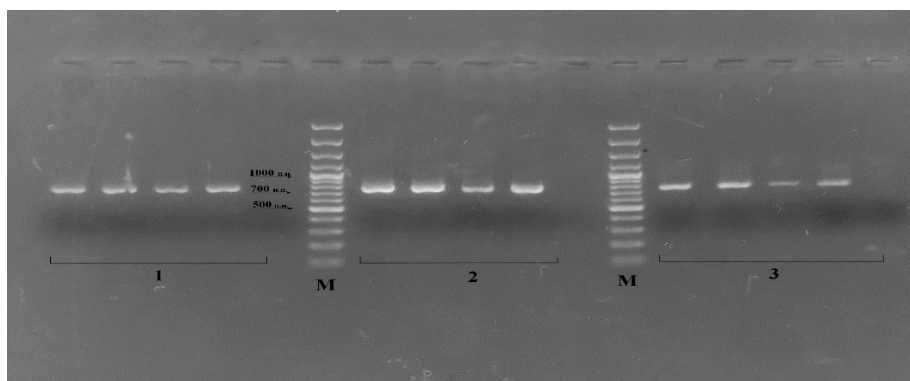
2. *Оптимизация условий получения, очистки и постановки секвенирующей ПЦР для амплификата CO1 участка митохондриальной ДНК.*

С использованием полученной геномной ДНК культур клеток были проведены исследования по подбору оптимальных условий ПЦР и состава реакционной смеси для получения целевого фрагмента митохондриальной ДНК, способа очистки амплификата для последующего секвенирования, параметров постановки секвенирующей реакции.

Особенностью олигонуклеотидов, используемых в реакции амплификации (см. материалы и методы) является их вырожденность: в определенных положениях присутствуют два альтернативных основания (R = пурины А и G; Y = пиримидины С и Т), что позволяет учесть известные вариации последовательностей сайтов связывания в области CO1, однако может потребовать более высоких концентраций олигонуклеотидов в реакционной смеси. Кроме того, они содержат «хвост» с последовательностями праймеров, используемых для секвенирования ДНК – M13 Forward и M13 Reverse. Эти праймеры получены на основании последовательности генома бактериального фага M13, которая с малой вероятностью присутствует в эукариотических организмах.

В экспериментах по оптимизации условий ПЦР с целью наработки амплификата фрагмента гена CO1 для анализа результатов использовали метод электрофореза в 1% агарозном геле, который позволяет оценить размер, чистоту и количество полученного ПЦР-продукта. Теоретически ожидаемый размер ампликона составляет ~ 750 п. н. (включая фланкирующие области праймеров). Концентрацию амплификатов определяли путем сравнения количества ДНК, нанесенной в лунку агарозного геля, с количеством образца ДНК-маркера в соответствующей размерной области.

Поскольку выход целевого продукта, а также точность и надежность амплификации во многом определяются эффективностью работы ДНК-полимеразы, было проведено исследование с использованием в составе реакционной смеси трех высокоточных и процессивных полимераз: Phusion U Hot Start DNA Polymerase (Thermo Scientific, США), Phusion Hot Start II High-Fidelity DNA polymerase (Thermo Scientific, США), Flash ДНК-полимераза (АртБиоТех, Республика Беларусь). В сравнительном эксперименте с применением различных ферментов установлено, что максимальный выход специфических продуктов амплификации при одинаковом количестве использованной матрицы наблюдался в случае использования ДНК-полимеразы Phusion Hot Start II High-Fidelity DNA polymerase (Thermo Scientific, США) (рисунок 2).



- 1 – Phusion U Hot Start DNA Polymerase (Thermo Scientific, США);
- 2 – Phusion Hot Start II High-Fidelity DNA polymerase (Thermo Scientific, США);
- 3 – Flash ДНК-полимераза (АртБиоТех, Республика Беларусь);
- М – маркер молекулярных масс GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder (Thermo Scientific, США).

Рисунок 2 – Электрофоретический анализ ампликатов фрагмента гена субъединицы 1 цитохром с-оксидазы (CO1), полученных на матрице ДНК 1А-4А с использованием различных ДНК-полимераз

Исследования по оптимизации температурно-временного протокола амплификации показали целесообразность применения трехступенчатой ПЦР и введения в начале протокола 5 циклов амплификации при более низкой температуре отжига, что повышает вероятность отжига вырожденных праймеров на целевом гене. Таким образом, в качестве оптимального выбран следующий режим амплификации: 1 цикл – 98 °С – 30 с; 5 циклов – 98 °С – 10 с, 50 °С – 20 с, 72 °С – 30 с; 35 циклов – 98 °С – 10 с, 55 °С – 20 с, 72 °С – 30 с; 1 цикл – 72 °С – 10 мин.

Изучение влияния количества матрицы в реакционной смеси (5–50 нг на реакцию в объеме 50 мкл) на эффективность амплификации показало, что оптимальное сочетание выхода и чистоты получаемого ампликона наблюдалось при использовании 10 нг геномной клеточной ДНК. Увеличение количества ДНК свыше 10 нг повышало риск неспецифической амплификации, тогда как уменьшение до 5 нг снижало конечный выход целевого продукта.

Важным условием для успешной постановки секвенирующей реакции является отсутствие примесей в препарате используемой для постановки реакции матрицы. При проведении исследований по установлению оптимального способа очистки полученных ампликонов (на примере двух образцов с максимальной и минимальной концентрацией) было показано, что наиболее эффективным способом при очистке амплификатов как с высокой концентрацией, так и с низкой являлся фенол-хлороформный метод. Для постановки секвенирующей реакции при проведении CO1 ДНК-профилирования применялись праймеры M13 Forward: 5' – CAGGAAACAGCTATGAC – 3' и M13 Reverse: 5' – TGAAAACGACGGCCAGTC – 3', нуклеотидные последовательности которых фланкируют олигонуклеотиды, используемые для получения CO1-амплификата [3].

В ходе проведения дальнейших исследований были экспериментально установлены оптимальные условия для постановки секвенирующей ПЦР. Реакционная смесь с конечным объемом 20 мкл содержала 10 нг амплификата, 2,5 x RR Sequencing Premix, 5x Sequencing Buffer, 15 pM соответствующего праймера. После денатурации образцов при 96 °С в течение 2 мин проводили 25 циклов амплификации при следующих температурно-временных параметрах: 15 с денатурации при 96 °С, 15 с отжига при 55 °С, 4 мин синтеза при 60 °С.

Очистку продуктов реакции от компонентов реакционной смеси (солей, ингибиторов, невключившихся ddNTPs) осуществляли методом переосаждения этанолом. Очищенный материал растворяли в 20 мкл формамида. Пробы денатурировали при 96 °С в течение 2 мин, после чего пробирки охлаждали во льду. Электрофорез проводили на генетическом анализаторе ABI PRISM 3100-Avant (Applied Biosystems, США).

Анализ полученных результатов показал пригодное для интерпретации и сравнения с референсной базой данных качество электрофореграмм (рисунок 3). В соответствии с требованиями стандарта ANSI/ATCC ASN-0003-2015 [3], как минимум 500 нуклеотидов (75 %) непосредственно в участке гена CO1 размером ~ 660 п. н. (после обработки и удаления последовательностей праймеров) должны быть с высоким качеством прочтения, т. е. иметь значение показателя QV (Quality value), отражающего точность определения нуклеотида в каждой позиции, ≥ 30 . Обе полученные консенсусные последовательности соответствовали данному условию: 656 из 658 (99,7 %) нуклеотидов для одной и 656 из 659 (98,5 %) нуклеотидов для второй последовательности имели значение QV ≥ 30 .

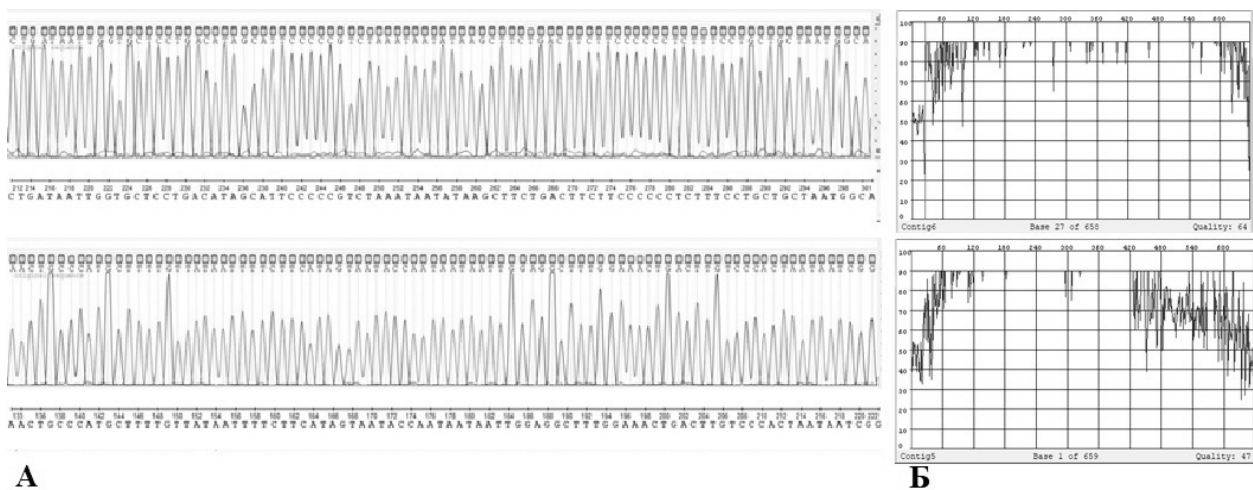


Рисунок 3 – Фрагмент электрофореграмм, полученных в результате секвенирования (А), и оценка их качества с использованием программного обеспечения CodonCode Aligner (Б)

3. Проведение видовой идентификации культур клеток животного происхождения.

Проведение видовой идентификации клеточных культур животного происхождения осуществляется согласно отработанной и описанной выше методике.

На начальном этапе исследований была получена геномная ДНК 20 клеточных культур животного происхождения коллекционного фонда. Качество генетического материала для всех клеточных культур соответствует требованиям к препарату ДНК, предъявляемым стандартом ANSI/ATCC ASN-0003-2015, что позволяет использовать его для последующих этапов ДНК-профилирования. С использованием универсальных геноспецифических праймеров VF1d, VR1d, LepF1, LepR1 (содержащих на концах последовательности олигонуклеотидов M13 Forward/Reverse, применяемых в последующем для секвенирования) методом ПЦР на матрице геномной ДНК каждой клеточной культуры был амплифицирован участок гена субъединицы 1 цитохром с - оксидазы размером ~ 750 пар нуклеотидных оснований. Анализ качества и количества амплификатов после их фенол-хлороформной очистки, проведенный методом электрофореза в агарозном геле, показал пригодность полученного материала для дальнейшего секвенирования.

На следующем этапе 10 нг очищенного амплификата было использовано в качестве матрицы для постановки секвенирующей ПЦР. Для каждого образца проводили две реакции – отдельно с прямого (M13 Forward) и обратного (M13 Reverse) праймеров. В результате электрофоретического разделения очищенных продуктов реакции секвенирования, распознавания последовательности ДНК с помощью автоматического ДНК-анализатора, обработки полученных данных с использованием программного обеспечения CodonCode Aligner были получены консенсусные нуклеотидные последовательности участка гена CO1 высокого качества прочтения, имеющие значения QV (Quality value) ≥ 30 для более 75 % нуклеотидов непосредственно в участке гена CO1.

В результате анализа полученных последовательностей с использованием базы данных BOLD «Species level barcodes» был установлен следующий уровень гомологии участка митохондриального гена CO1 с содержащимися референсными последовательностями:

- для культуры клеток BGM на уровне 99,84 % с последовательностями, относящимися к виду *Chlorocebus aethiops*;
- для культуры клеток McCoy на уровне 100 % с последовательностями, относящимися к виду *Mus musculus*;
- для культуры клеток Vero на уровне 100 % с последовательностями, относящимися к виду *Chlorocebus aethiops*;
- для культуры клеток MDBK на уровне 100 % с последовательностями, относящимися к виду *Bos taurus*;
- для культуры клеток СПЭВ на уровне 100 % с последовательностями, относящимися к виду *Sus scrofa*;
- для культуры клеток VeroE6 на уровне 100 % с последовательностями, относящимися к виду *Chlorocebus aethiops* (*Chlorocebus sabaeus*);
- для культуры клеток C6 на уровне 100 % с последовательностями, относящимися к виду *Rattus norvegicus*;
- для культуры клеток Vero (V) на уровне 100% с последовательностями, относящимися к виду *Chlorocebus aethiops* (*Chlorocebus sabaeus*);
- для культуры клеток MDCK на уровне 99,85 % с последовательностями, относящимися к виду *Canis lupus familiaris*;
- для культуры клеток Ma-104 на уровне 99,89 % с последовательностями, относящимися к виду *Chlorocebus pygerythrus*;
- для культуры клеток NFS-60 на уровне 99,82 % с последовательностями, относящимися к виду *Mus musculus*;
- для культуры клеток L929 на уровне 100 % с последовательностями, относящимися к виду *Mus musculus*;
- для культуры клеток 46–47 на уровне 99,36 % с последовательностями, относящимися к виду *Chlorocebus aethiops*;
- для культуры клеток EL-4 на уровне 100 % с последовательностями, относящимися к виду *Mus musculus*;
- для культуры клеток L1210 на уровне 99,82 % с последовательностями, относящимися к виду *Mus musculus*;

- для культуры клеток P388D1 на уровне 100 % с последовательностями, относящимися к виду *Mus musculus*;
- для культуры клеток P3X63Ag8.653 на уровне 100 % с последовательностями, относящимися к виду *Mus musculus*;
- для культуры клеток RK-13 на уровне 100 % с последовательностями, относящимися к виду *Oryctolagus cuniculus*;
- для культуры клеток CV-1 на уровне 100 % с последовательностями, относящимися к виду *Chlorocebus aethiops*;
- для культуры клеток FRhK-4 на уровне 100 % с последовательностями, относящимися к виду *Sus scrofa*.

Как видно из полученных данных, установленная по результатам секвенирования видовая принадлежность культуры клеток FRhK-4 (*Sus scrofa*, свинья) не соответствует исходной (*Macaca mulatta*, макака-резус), что не позволяет подтвердить подлинность данной закладки клеточной культуры. Отдельный интерес представляет культура клеток Ma-104, источником получения которой довольно долгое время считалась почечная ткань макаки-резус (*Macaca mulatta*). Данная культура включена в реестр ошибочно идентифицированных клеточных линий (Register of misidentified cell lines, <https://iclac.org/databases/cross-contaminations>). Информация о ее происхождении была пересмотрена Международным комитетом по идентификации клеточных линий ICLAC (ref: 220912) на основании результатов секвенирования CO1 гена, опубликованных в 2021 году [5]. В настоящее время по происхождению культура клеток Ma-104 отнесена к виду *Chlorocebus pygerythrus* (карликовая зеленая мартышка). Данная видовая принадлежность подтвердилась в результате проведенного ДНК-профилирования для задепонированной в коллекции клеточной культуры Ma-104.

Заключение. Отработана и апробирована методика анализа подлинности культур клеток животного происхождения на основании секвенирования митохондриального гена цитохром с - оксидазы (CO1) в соответствии с требованиями международного стандарта ANSI/ATCC ASN-0003-2015: определены оптимальные температурно-временные параметры ПЦП и состав реакционной смеси для амплификации участка гена CO1, установлен наиболее эффективный способ очистки амплификата, подобраны условия постановки секвенирующей реакции, отработаны принципы обработки и анализа полученных нуклеотидных последовательностей с использованием референсной базы данных.

В соответствии с требованиями международного стандарта ANSI/ATCC ASN-0003-2015 проведена видовая идентификация культур клеток животного происхождения, задепонированных в коллекции государственного учреждения «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», на основании секвенирования митохондриального гена цитохром с - оксидазы (CO1).

Для 18 клеточных культур (BGM, McCoyB, Vero, MDBK, СПЭВ, VeroE6, C6, Vero (V), MDCK, NFS-60, L929, 46-47, EL-4, L1210, CV-1, P388D1, P3X63Ag8.653, RK-13) показано полное соответствие исходному виду животных, из материала которых они были получены. Результаты определения видовой принадлежности клеточной культуры Ma-104 соответствуют актуальным сведениям реестра ошибочно идентифицированных и контаминированных клеточных линий Международного комитета по идентификации клеточных линий, согласно которым данная культура по происхождению относится к виду *Chlorocebus pygerythrus* (карликовая зеленая мартышка), а не *Macaca mulatta* (макака-резус).

Проведение аутентификации клеточных культур коллекционного фонда, включающей подтверждение подлинности, отсутствия межвидовой и микробиологической контаминации, позволит обеспечить соблюдение требований, предъявляемых к качеству клеточного материала на уровне имеющихся мировых стандартов, и гарантировать таким образом надежность, безопасность и эффективность его применения в экспериментальной, диагностической, производственной работе, прикладных научных исследованиях.

Сведения о НИР. НИР «Разработать и внедрить алгоритм аутентификации клеточных линий человека и животных на основе ДНК-профилирования и молекулярно-генетических методов выявления организмов-контаминантов», подпрограмма «Геномные технологии и инфекционная безопасность» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», 2021-2025 годы, регистрационный номер 20220135.

Литература

1. Cell line authentication publication requirements. – URL: <https://www.atcc.org/the-science/authentication/cell-line-authentication-publication-requirements> (date of access: 29.05.2023).

2. Enhancing reproducibility through rigor and transparency. – URL: <https://grants.nih.gov/grants/guide/notice-files/not-od-15-103.html> (date of access: 29.05.2023).

3. ANSI/ATCC ASN-0003-2015. Species-level identification of animal cells through mitochondrial cytochrome c oxidase subunit 1 (CO1) DNA barcodes. – Manassas : ATCC Standards Development Organization, 2015. – 152 p.

4. Ratnasingham, S. Bold: The barcode of life data system (<http://www.barcodinglife.org>) / S. Ratnasingham, P. D. N. Hebert // *Molecular Ecology Notes*. – 2007. – Vol. 7, № 3. – P. 355–364.

5. High-throughput sequencing for species authentication and contamination detection of 63 cell lines / O. Lung, R. Candlish, M. Nebroski [et al.] // *Scientific Reports*. – 2021. – Vol. 11, № 1. – DOI: 10.1038/s41598-021-00779-5.

Fomina E. G., Grigorieva E. E., Koran S. V., Zverko V. V.

**SPECIES-LEVEL IDENTIFICATION OF ANIMAL CELLS:
A MODERN VIEW OF THE PROBLEM**

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

The authentication algorithm for cell cultures of animal origin has been worked out. Twenty cell cultures of animal origin were identified on the basis of sequencing of the cytochrome c-oxidase subunit 1 gene fragment. Nineteen out of twenty studied cultures were proved to belong to a certain biological species. The identity of Ma-104 cells to *Chlorocebus pygerythrus* rather than *Macaca mulatta*, as previously thought, was confirmed. DNA barcoding has been put into practice for identifying the species of cell cultures of animal origin in accordance with the requirements of the international standard ANSI/ATCC ASN-0003-2015.

Keywords: animal cell cultures, sequencing, cytochrome c-oxidase gene, DNA barcoding.

References

1. Cell line authentication publication requirements. Available at: <https://www.atcc.org/the-science/authentication/cell-line-authenticationpublication-requirements.html> (accessed 29 May 2023).

2. Enhancing reproducibility through rigor and transparency. Available at: <https://grants.nih.gov/grants/guide/notice-files/not-od-15-103.html> (accessed 29 May 2023).

3. ANSI/ATCC ASN-0003-2015. Species-level identification of animal cells through mitochondrial cytochrome c oxidase subunit 1 (CO1) DNA barcodes. Manassas: ATCC Standards Development Organization; 2015.

4. Ratnasingham S., Hebert P. D. N. Bold: the barcode of life data system (<http://www.barcodinglife.org>). *Mol Ecol Notes*. 2007; 7(3): 355–64.

5. Lung O., Candlish R., Nebroski M. et al. High-throughput sequencing for species authentication and contamination detection of 63 cell lines. *Sci Rep*. 2021; 11(1). DOI: 10.1038/s41598-021-00779-5.

e-mail для переписки: feg1@tut.by

Поступила 23.09.2024

Раздел 11

КЛИНИЧЕСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ И АНТИМИКРОБНАЯ ТЕРАПИЯ

УДК 579.61:615.076(476)

Гудков В. Г., Пугач В. В., Анискович Е. Д., Гасич Е. Л., Красько А. Г., Горбунов В. А.

ХАРАКТЕРИСТИКА И ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ЭТАЛОННЫХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ, ДЕПОНИРОВАННЫХ В РЕСПУБЛИКАНСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ ПАТОГЕННЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ АГЕНТОВ ПОД БРЕНДОМ BELRIEM®, ПЕРСПЕКТИВЫ НОВЫХ РАЗРАБОТОК

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и микробиологии», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Представлена характеристика первых 10 эталонных штаммов микроорганизмов (далее – ЭШМ), разработанных в Республике Беларусь и депонированных в Республиканской коллекции патогенных биологических агентов под брендом BELRIEM®. Описана ближайшая перспектива разработки и производства 10 других актуальных видов ЭШМ, обладающих определенными преимуществами перед зарубежными аналогами из Американской коллекции типовых культур (ATCC®).

Ключевые слова: микробиологические исследования, стандартизация, эталонные штаммы микроорганизмов.

Введение. Очевидно, что качество микробиологических исследований в значительной мере определяется эффективностью используемой системы стандартизации и контроля качества как самих исследований, так и применяемых реагентов. Важным критерием оценки эффективности этой системы являются результаты систематического внутрिलाбораторного и межлабораторного контроля качества исследований [1]. Практически неотъемлемым элементом системы стандартизации и контроля качества микробиологических исследований является применение лабораторных стандартных образцов для микробиологических исследований, которыми являются эталонные штаммы микроорганизмов. В Республике Беларусь техническими нормативными правовыми актами (далее – ТНПА), регламентирующими проведение микробиологических исследований, предусмотрено применение зарегистрированных в установленном порядке ЭШМ в качестве лабораторных стандартных образцов для микробиологических исследований [2–8].

До последнего времени в микробиологических лабораториях нашей республики использовались ЭШМ исключительно зарубежного производства, чаще всего из Американской коллекции типовых культур. Однако приобретение ЭШМ за рубежом связано со значительными временными, правовыми и финансовыми издержками.

С целью обеспечения потребности микробиологических лабораторий Республики Беларусь в лабораторных стандартных образцах для микробиологических исследований отечественного производства в РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (с 01.07.2024 – НИИ гигиены, токсикологии, эпидемиологии, вирусологии и микробиологии ГУ «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья») в рамках выполнения научно-технического проекта были разработаны первые 10 отечественных ЭШМ видов *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli* (2 штамма), *Pseudomonas aeruginosa* (3 штамма) и *Staphylococcus aureus* (2 штамма). Каждый из разработанных штаммов был подробно охарактеризован по морфологическим, культуральным, биохимическим, молекулярно-генетическим свойствам. ЭШМ, предназначенные для стандартизации и контроля качества исследований по изучению резистентности микроорганизмов к противомикробным средствам, были охарактеризованы по профилю чувствительности к антибиотикам, антисептикам и дезинфектантам [9]. Следует отметить, что разработанные отечественные ЭШМ являются функциональными аналогами соответствующих штаммов из коллекции ATCC®. В сравнительных испытаниях ЭШМ коллекции ATCC® и ЭШМ разработки РНПЦ эпидемиологии и микробиологии были изучены способность роста микроорганизмов на дифференциально-диагностических

и селективных микробиологических питательных средах, характер роста колоний микроорганизмов в чистых культурах, тинкториальные свойства, морфология отдельных клеток при микроскопии. Оценены проявления утилизации и ферментации биохимических субстратов, продукции специфических химических соединений, ферментов агрессии. Определены параметры чувствительности микроорганизмов к противомикробным средствам. Результаты исследований подробно изложены в соответствующей публикации [9]. Согласно утвержденному Министерством здравоохранения Республики Беларусь комплексу нормативно-технической документации (ТУ и инструкции по применению), отечественные ЭШМ могут применяться наравне или вместо соответствующих ЭШМ из коллекции АТСС®.

В РНПЦ эпидемиологии и микробиологии организовано производство отечественных ЭШМ, в 2023 г. начат выпуск этих изделий медицинского назначения (далее – ИМН). Форма выпуска – лиофилизированные культуры соответствующих эталонных штаммов микроорганизмов в питательной среде, не менее 1×10^4 КОЕ во флаконе. Перед использованием содержимое флакона необходимо регидратировать в 0,5–1,0 мл стерильной дистиллированной воды и посеять на подходящие микробиологические питательные среды.

Целью работы являлось изучение эффективности практического применения отечественных ЭШМ и оценка соответствия их свойств заявленным параметрам.

Материалы и методы. Материалом для исследований служили 10 отечественных ЭШМ, депонированных в Республиканской коллекции патогенных биологических агентов под торговой маркой BELRIEM® и зарегистрированных в установленном в Республике Беларусь порядке в качестве ИМН (таблица 1).

Таблица 1 – Перечень и функциональное назначение ЭШМ, использованных в настоящем исследовании

№	Функциональное назначение ЭШМ	Вид микроорганизма, питательные среды, реагенты	Наименование ЭШМ
1	Контроль качества и стандартизация микробиологических питательных сред	<i>Candida albicans</i> : агар Сабуро, агар Мюллера – Хинтон, среда Эндо. <i>Enterococcus faecalis</i> : энтерококкагар, кровяной агар, среда Эндо. <i>Escherichia coli</i> : среда Эндо, агар Мюллера – Хинтон, маннитно-солевой агар. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : цетримидный агар, агар Мюллера – Хинтон, агар Сабуро. <i>Staphylococcus aureus</i> : маннитно-солевой агар, агар Мюллера – Хинтон, агар Сабуро.	<i>Candida albicans</i> BELRIEM® CA-1 <i>Enterococcus faecalis</i> BELRIEM® EFs-1 <i>Escherichia coli</i> BELRIEM® EC-1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> BELRIEM® PA-1 <i>Staphylococcus aureus</i> BELRIEM® StaphA-1
2	Контроль качества и стандартизация исследований по определению противомикробной активности антисептических и дезинфицирующих средств	<i>Candida albicans</i> : этанол, натриевая соль дихлоризоциануровой кислоты, перекись водорода. <i>Enterococcus faecium</i> : этанол, натриевая соль дихлоризоциануровой кислоты, перекись водорода. <i>Escherichia coli</i> : этанол, натриевая соль дихлоризоциануровой кислоты, перекись водорода. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> : этанол, натриевая соль дихлоризоциануровой кислоты, перекись водорода. <i>Staphylococcus aureus</i> : этанол, натриевая соль дихлоризоциануровой кислоты, перекись водорода.	<i>Candida albicans</i> BELRIEM® CA-1 <i>Enterococcus faecium</i> BELRIEM® EFm-1 <i>Escherichia coli</i> BELRIEM® EC-2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> BELRIEM® PA-3 <i>Staphylococcus aureus</i> BELRIEM® StaphA-1

№	Функциональное назначение ЭШМ	Вид микроорганизма, питательные среды, реагенты	Наименование ЭШМ
3	Контроль качества и стандартизация исследований по определению чувствительности микроорганизмов к антибиотикам	<p><i>Candida albicans</i>: флуконазол (40 мкг/диск), амфотерицин В (40 мкг/диск).</p> <p><i>Enterococcus faecalis</i>: имипенем (10 мкг/диск), левофлоксацин (5 мкг/диск), норфлоксацин (10 мкг/диск), ванкомицин (5 мкг/диск), нитрофурантоин (100 мкг/диск).</p> <p><i>Escherichia coli</i>: амикацин (30 мкг/диск), амоксициллин/клавулановая кислота (20/10 мкг/диск), ампициллин (10 мкг/диск), цефепим (30 мкг/диск), цефтазидим (30 мкг/диск), цефокситин (30 мкг/диск), норфлоксацин (10 мкг/диск), левофлоксацин (5 мкг/диск), моксифлоксацин (10 мкг/диск), гентамицин (10 мкг/диск), нитрофурантоин (100 мкг/диск), имипенем (10 мкг/диск).</p> <p><i>Pseudomonas aeruginosa</i>: амикацин (30 мкг/диск), цефепим (30 мкг/диск), цефтазидим (30 мкг/диск), левофлоксацин (5 мкг/диск), гентамицин (10 мкг/диск), имипенем (10 мкг/диск), пиперациллин/тазобактам (30/6 мкг/диск).</p> <p><i>Staphylococcus aureus</i>: амикацин (30 мкг/диск), цефокситин (30 мкг/диск), норфлоксацин (10 мкг/диск), левофлоксацин (5 мкг/диск), моксифлоксацин (5 мкг/диск), гентамицин (10 мкг/диск), эритромицин (15 мкг/диск), тетрациклин (30 мкг/диск), нитрофурантоин (100 мкг/диск).</p>	<p><i>Candida albicans</i> BELRIEM® CA-1</p> <p><i>Enterococcus faecalis</i> BELRIEM® EFs-1</p> <p><i>Escherichia coli</i> BELRIEM® EC-1</p> <p><i>Pseudomonas aeruginosa</i> BELRIEM® PA-2</p> <p><i>Staphylococcus aureus</i> BELRIEM® StaphA-2</p>

Использовались разрешенные к применению микробиологические питательные среды, диски с антибиотиками, дезинфицирующие и антисептические средства.

Все использованные в исследовании ЭШМ применялись в соответствии с инструкциями по их применению. Оценка ростовых, селективных, дифференциально-диагностических свойств приготовленных партий микробиологических питательных сред, исследование антимикробной активности дезинфицирующих и антисептических средств в качественном эксперименте с суспензией, определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам осуществлялось в соответствии с действующими ТНПА [8, 10]. Чувствительность выделенных штаммов микроорганизмов к антибиотикам оценивалась в соответствии с актуальной версией международных критериев EUCAST.

Результаты и их обсуждение. Проведена апробация отечественных ЭШМ в процессе практического применения при проведении диагностических микробиологических исследований в РНПЦ эпидемиологии и микробиологии. ЭШМ использовались при проведении контроля качества следующих микробиологических питательных сред: агар Мюллера – Хинтон, агаризованная среда Эндо, агар Сабуро, маннитно-солевой агар, энтерококкагар, кровяной агар, цетримидный агар. Оценивались показатели чувствительности, скорости роста, дифференцирующих свойств, процент извлекаемости (всхожести), показатели ингибиции и стабильности основных свойств микроорганизмов [5]. Результаты исследований по определению показателей ростовых и селективных свойств ряда микробиологических питательных сред представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Показатели, характеризующие ростовые и селективные свойства испытанных микробиологических питательных сред

№	Наименование питательной среды	Наличие роста или ингибирования культуры ЭШМ с указанием соответствующего показателя:				
		<i>C. albicans</i> BELRIEM* CA-1	<i>E. faecalis</i> BELRIEM* EFs-1	<i>E. coli</i> BELRIEM* EC-1	<i>P. aeruginosa</i> BELRIEM* PA-1	<i>S. aureus</i> BELRIEM* StaphA-1
1	Агар Мюллера – Хинтон	+, ПВ = 81 %	НИ	+, ПВ = 91 %	+, ПВ = 89 %	+, ПВ = 90 %
2	Кровяной агар	НИ	+, ПВ = 88 %	НИ	НИ	НИ
3	Среда Эндо	-, ПИ = 0	-, ПИ = 0	+, ПВ = 87 %	НИ	НИ
4	Энтерококкагар	НИ	+, ПВ = 85 %	НИ	НИ	НИ
5	Цетримидный агар	НИ	НИ	НИ	+, ПВ = 86 %	НИ
6	Агар Сабуро	+, ПВ = 87 %	НИ	НИ	-, ПИ = 0	-, ПИ = 0
7	Маннитно-солевой агар	НИ	НИ	-, ПИ = 0	НИ	+, ПВ = 82 %
Примечания: 1) «+» – среда поддерживает рост ЭШМ; 2) «-» – среда ингибирует рост ЭШМ; 3) «НИ» – исследования не проводились; 4) «ПВ» – процент всхожести, %; 5) «ПИ» – показатель ингибиции.						

Значения показателя чувствительности для испытанных микробиологических питательных сред составили 10^{-6} – 10^{-7} при использовании ЭШМ тех видов, оптимальные условия для роста которых обеспечиваются соответствующими средами.

Скорость роста ЭШМ на неселективных микробиологических питательных средах составляла 15–18 часов для ЭШМ бактериальной природы и 21–25 часов для ЭШМ вида *Candida albicans*.

Скорость роста ЭШМ на селективных и дифференциально-диагностических микробиологических питательных средах варьировала в зависимости от биологических особенностей ЭШМ каждого вида. Так, при посеве ЭШМ вида *Escherichia coli* на среду Эндо наблюдался рост округлых выпуклых колоний насыщенного бордового цвета (лактозоположительные колонии) с металлическим блеском спустя 18–20 часов с момента посева. При посеве ЭШМ вида *Pseudomonas aeruginosa* на цетримидный агар наблюдался рост округлых колоний с характерным запахом жасмина (продукция 2-аминоацетофенона), продуцирующих сине-зеленый пигмент, спустя 22–26 часов с момента посева. При посеве ЭШМ вида *Staphylococcus aureus* на маннитно-солевой агар наблюдался рост округлых колоний желтоватого цвета, слабо выпуклых, окруженных зоной помутнения (лецитиназная активность) и пожелтения среды (ферментация маннита), спустя 22–24 часа с момента посева. При посеве ЭШМ вида *Enterococcus faecalis* на энтерококкагар наблюдался рост округлых выпуклых мелких колоний фиолетового цвета с металлическим блеском спустя 23–25 часов с момента посева. При посеве ЭШМ вида *Candida albicans* на агар Сабуро наблюдался рост крупных округлых выпуклых колоний белого цвета с характерным запахом дрожжей спустя 25–30 часов с момента посева.

Стабильность наборов фенотипических признаков всех ЭШМ прослеживалась на протяжении 5 последовательных пассажей на соответствующих микробиологических питательных средах.

Информация о результатах определения чувствительности отечественных ЭШМ к антибиотикам представлена в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты исследований по определению чувствительности ЭШМ к антибиотикам диско-диффузионным методом

№ п/п	Наименование антибиотика, его содержание в диске	Значения диаметров зон задержки роста, мм				
		<i>C. albicans</i> BELRIEM® CA-1	<i>E. faecalis</i> BELRIEM® EFs-1	<i>E. coli</i> BELRIEM® EC-1	<i>P. aeruginosa</i> BELRIEM® PA-1	<i>S.aureus</i> BELRIEM® StaphA-1
1	Ампициллин, 10 мкг	НИ	НИ	21,33 ± 1,64	НИ	НИ
2	Амоксициллин/клавулановая кислота, 20/10 мкг	НИ	НИ	20,33 ± 0,82	НИ	НИ
3	Пиперациллин/тазобактам, 30/6 мкг	НИ	НИ	НИ	21,67 ± 3,56	НИ
4	Цефепим, 30 мкг	НИ	НИ	33,67 ± 0,82	27,67 ± 0,82	НИ
5	Цефтазидим, 30 мкг	НИ	НИ	НИ	НИ	НИ
6	Цефокситин, 30 мкг	НИ	НИ	25,00 ± 1,42	НИ	28,67 ± 0,82
7	Моксифлоксацин, 10 мкг	НИ	НИ	32,00 ± 1,42	НИ	30,00 ± 1,42
8	Левифлоксацин, 5 мкг	НИ	22,00 ± 1,42	31,33 ± 1,64	22,67 ± 0,82	30,67 ± 0,82
9	Норфлоксацин, 10 мкг	НИ	18,00 ± 1,42	32,00 ± 1,42	НИ	30,00 ± 1,42
10	Имипенем, 10 мкг	НИ	24,33 ± 0,82	29,33 ± 2,16	25,67 ± 0,82	НИ
11	Амикацин, 30 мкг	НИ	НИ	25,67±0,82	20,33 ± 0,82	30,33 ± 0,82
12	Гентамицин, 10 мкг	НИ	НИ	23,33 ± 0,82	19,33 ± 0,82	26,67 ± 2,16
13	Эритромицин, 15 мкг	НИ	НИ	НИ	НИ	27,33 ± 0,82
14	Тетрациклин, 30 мкг	НИ	НИ	НИ	НИ	29,33 ± 0,82
15	Ванкомицин, 5 мкг	НИ	14,33 ± 1,64	НИ	НИ	НИ
16	Нитрофурантоин, 100 мкг	НИ	21,00 ± 1,42	21,33 ± 0,82	НИ	20,00 ± 1,42
17	Флуконазол, 40 мкг	23,00 ± 1,42	НИ	НИ	НИ	НИ
18	Амфотерицин В, 40 мкг	19,33 ± 1,64	НИ	НИ	НИ	НИ

Примечание – НИ – исследования не проводились.

Исследования по определению чувствительности ЭШМ к антибиотикам показали, что ЭШМ разных видов характеризовались различными диапазонами значений диаметров зон задержки роста. При этом полученные для всех ЭШМ значения диаметров зон задержки роста, соответствующие нижним границам доверительных интервалов, превышают пороговые значения, установленные критериями EUCAST для устойчивых к антибиотикам штаммов.

Результаты качественного эксперимента с суспензией по определению чувствительности ЭШМ к перекиси водорода, натриевой соли дихлоризоциануровой кислоты и этиловому спирту, показали, что все испытанные лабораторные стандартные образцы были чувствительны к указанным активно действующим веществам дезинфицирующих и антисептических средств, что соответствовало характеристике ЭШМ.

В процессе непосредственной работы с ЭШМ отмечена стабильность и воспроизводимость их свойств, а также удобная для применения форма выпуска этих стандартных образцов.

Таким образом, полученные в процессе диагностических микробиологических исследований результаты свидетельствуют об эффективности практического применения отечественных ЭШМ и соответствии их качества заявленным параметрам.

С целью расширения отечественной коллекции ЭШМ для более полного удовлетворения потребности микробиологических лабораторий Республики Беларусь в РНПЦ эпидемиологии и микробиологии начата разработка новых ЭШМ, предназначенных для контроля качества и стандартизации микробиологических исследований в отношении 8 видов микроорганизмов, характеризующихся клинической и эпидемиологической значимостью: *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Streptococcus agalactiae*, бактерии родов *Salmonella* и *Proteus*, а также токсигенный и нетоксигенный штаммы возбудителя дифтерии – *Corynebacterium diphtheriae*.

Высокая значимость этих микроорганизмов для здравоохранения подтверждается данными научной литературы и медицинской статистики. Так, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii* являются широко распространенными возбудителями инфекций, ассоциированных с высокими рисками развития тяжелых форм заболеваний и нежелательных осложнений медицинских вмешательств. В популяциях этих инфекционных агентов широко распространено явление антибиотикорезистентности, в том числе к антибиотикам «резерва», что существенно сужает спектр применяемых для лечения препаратов и замедляет процесс выздоровления пациентов.

Streptococcus agalactiae – возбудитель инфекций, особенно актуальных в неонатологической и акушерско-гинекологической практике. Наиболее частой формой проявления инфекционного процесса у младенцев является менингит, показатель летальности при котором может достигать 50 %. Раннее выявление случаев инфицирования беременных *Streptococcus agalactiae*, подтвержденное надежными результатами лабораторных исследований по идентификации этиологического агента, будет способствовать снижению рисков для жизни и здоровья новорожденных, ассоциированных с этим возбудителем.

Бактерии рода *Salmonella* являются возбудителями острых кишечных инфекций (сальмонеллезов), протекающих преимущественно в форме гастроэнтерита с тенденцией к более тяжелому течению у лиц с преморбидным фоном, а также у детей. Важной особенностью возбудителей этой инфекционной патологии является способность к персистенции в организме переболевшего пациента и формированию бактерионосительства. При этом в научной литературе отмечается, что в ряде случаев назначение антибиотиков не только не способствует элиминации сальмонелл из организма, но и провоцирует более продолжительное бактериовыделение. Следует отметить, что в 2022 году в Республике Беларусь зарегистрирован 2371 случай сальмонеллеза, а показатель заболеваемости составил 25,6525 на 100 000 населения.

Микроорганизмы рода *Proteus* являются возбудителями воспалительных заболеваний кишечника, целиакии (ассоциирована с *Proteus mirabilis*), острых гастроэнтеритов, цистита, пиелонефрита. Возможно формирование носительства. Наличие *Proteus spp.* – один из критериев качества и безопасности продовольственного сырья и готовой продукции.

Corynebacterium diphtheriae является возбудителем дифтерии – острого бактериального заболевания, обусловленного токсин-продуцирующими штаммами микроорганизма. Инфекция может протекать как в респираторной, так и в других (например, кожной) формах. Неспособные к продукции токсина штаммы *C. diphtheriae* также могут обуславливать инфекционную патологию, которая, как правило, характеризуется более мягким течением. Ведущим симптомом при таких инфекциях являются умеренная боль в горле, редко – мембранозный фарингит. Однако в специализированной литературе представлены сведения о случаях инвазивных инфекций, сопровождающихся бактериемией, эндокардитом, также обусловленных *C. diphtheriae*, не продуцирующими токсин.

Известны еще два вида значимых в патологии человека коринебактерий – *C. ulcerans* и *C. pseudotuberculosis*. Токсин-продуцирующие штаммы *C. ulcerans* могут обуславливать инфекции, характеризующиеся клиническими симптомами, клинически неотличимыми от симптомов при инфекциях, обусловленных токсин-продуцирующими штаммами *C. diphtheriae*. При этом случаев передачи *C. ulcerans* от человека к человеку задокументировано не было, что обуславливает необходимость достоверной и надежной идентификации возбудителя, проведения исследований по изучению

способности к образованию токсина у выявленных штаммов коринебактерий с целью разработки, организации и проведения комплекса противоэпидемических и профилактических мероприятий при выявлении случаев дифтериеподобных заболеваний.

Функциональное соответствие отечественных ЭШМ и аналогов АТСС[®] будет достигнуто по следующим параметрам: культуральные свойства, включающие особенности роста колоний, их формы и размеры на различных микробиологических питательных средах; морфологические свойства (форма и размер клеток микроорганизмов, их окраска при микроскопическом исследовании); способность к утилизации, ферментации различных биохимических субстратов, продукции ряда соединений (биохимические свойства); особенности антигенной структуры микроорганизмов, обуславливающие их способность взаимодействовать с диагностическими сыворотками (серологические свойства), и молекулярно-генетические свойства по наличию специфических нуклеотидных последовательностей в составе генома бактерий.

Вместе с тем разрабатываемые отечественные ЭШМ будут отличаться от аналогов из коллекции АТСС[®] расширенной характеристикой биологических свойств, что позволит использовать их для контроля и стандартизации большего количества видов микробиологических исследований. Так, отечественные ЭШМ будут полностью соответствовать функциональному назначению зарубежных аналогов из коллекции АТСС[®] и, кроме того, предназначены для использования в качестве лабораторных стандартных образцов при определении чувствительности микроорганизмов к антибиотикам, дезинфицирующим и антисептическим средствам и оценке их эффективности в отношении этих видов микроорганизмов.

Заключение. Получен опыт практического применения отечественных ЭШМ при проведении диагностических микробиологических исследований, показана эффективность их использования и соответствие биологических свойств заявленным параметрам.

Разработка и производство отечественных ЭШМ способствует оперативному и бесперебойному обеспечению микробиологических лабораторий, совершенствованию системы стандартизации и контроля качества микробиологических исследований в республике, повышению независимости в сфере обеспечения национальной биобезопасности, вносит определенный вклад в импортозамещение и валютосбережение.

Сведения о НИР. НИР «Разработать технологию получения и организовать производство эталонных штаммов микроорганизмов» подпрограммы «Геномные технологии и инфекционная безопасность» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», 2021–2025 годы, регистрационный номер 20201329;

НИР «Разработать и организовать производство эталонных штаммов клинически и эпидемиологически значимых микроорганизмов» подпрограммы «Геномные технологии и инфекционная безопасность» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», 2021–2025 годы, регистрационный номер 20240257.

Литература

1. Меньшиков, В. В. Стандартизация в клинической микробиологии: потребности и возможности / В. В. Меньшиков, В. С. Михайлова // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2013. – Т. 15, № 3. – С. 230–234.

2. Об утверждении Правил надлежащей производственной практики Евразийского экономического союза : решение Совета Евраз. экон. комис. от 03 нояб. 2016 г. № 77. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/45602609> (дата обращения: 14.11.2023).

3. Государственная фармакопея Республики Беларусь : разработ. на основе Европ. Фармакопеи : в 2 т. / Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении ; под общ. ред. А. А. Шерякова. – Молодечно : Победа, 2012. – Т. 1 : Общие методы контроля качества лекарственных средств. – 1120 с.

4. ГОСТ ISO 11133-2016. Микробиология пищевых продуктов, кормов для животных и воды. Приготовление, производство, хранение и определение рабочих характеристик питательных сред. – Взамен ГОСТ ISO/TS 11133-1-2014, ГОСТ ISO 11133-2-2011 ; введ. 07.01.2017. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200141101> (дата доступа: 14.11.2023).

5. Хранение, приготовление и контроль качества питательных сред : инструкция № 079-0210 : утв. постановлением М-ва здравоохранения Респ. Беларусь 19.03.2010 / М-во здравоохранения Респ. Беларусь. – Минск, 2010. – URL: http://soligorskcg.by/index.php?option=com_content&view=article&id=3253:2012-02-28-13-42-19 (дата доступа: 14.11.2023).

6. Микробиологические методы исследования биологического материала : инструкция по применению № 075-0210 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 19.03.2010 / М-во здравоохранения Респ. Беларусь ; Н. Д. Коломиец, О. В. Тонко, Т. И. Сероокая [и др.]. – Минск, 2010. – 122 с.

7. Методы проверки и оценки антимикробной активности дезинфицирующих и антисептических средств : инструкция по применению № 11-20-204-2003 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 22.12.2003 / сост.: В. П. Филонов [и др.] – Минск, 2003. – 41 с.

8. Определение бактерицидной активности антисептиков и дезинфектантов методом мембранной фильтрации : инструкция по применению № 34-0102 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 11.07.2002 г. – Минск, 2002. – 12 с.

9. Эталонные штаммы бактерий и грибов из коллекции BELRIEM® – перспективные отечественные лабораторные стандарты для микробиологических исследований / В. Г. Гудков, В. В. Пугач, В. А. Горбунов [и др.] // Медицинские новости. – 2022. – № 11. – С. 49–52. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/etalonnye-shtammy-bakteriy-i-gribov-iz-kollektsii-belriem-perspektivnye-otechestvennye-laboratornye-standarty-dlya/viewer> (дата доступа: 14.11.2023).

10. Методы определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам : инструкция по применению № 226-1200 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 13.11.2008 / Респ. центр гигиены, эпидемиологии и микробиологии, Науч.-исслед. ин-т эпидемиологии и микробиологии, Белорус. мед. акад. последиплом. образования ; А. М. Марейко, Т. И. Сероокая, Л. П. Титов [и др.]. – Минск, 2008. – 83 с.

Gudkov V. G., Pugach V. V., Aniskovich E. D., Gasich E. L., Krasko A. G., Gorbunov V. A.

CHARACTERISTICS AND USAGE EXPERIENCE OF REFERENCE STRAINS OF MICROORGANISMS, DEPOSITED IN THE REPUBLICAN COLLECTION OF PATHOGENIC BIOLOGICAL AGENTS UNDER THE BELRIEM® BRAND, PERSPECTIVES OF FUTURE DEVELOPMENT

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

In this article the characteristics of the first 10 reference strains of microorganisms, developed in the Republic of Belarus and deposited in the Republican collection of pathogenic biological agents under the BELRIEM® brand, are shown. The nearest perspectives of development and production of 10 other reference strains of actual 8 species, which possess certain advantages over foreign analogues from the American Type Culture Collection (ATCC®), are described.

Keywords: microbiological assays, standardization, reference strains of microorganisms.

References

1. Menshikov V. V., Mikhailova V. S. Standardization in clinical microbiology: needs and possibilities. *Klin Mikrobiologiya Antimikrob Khimioterapiya*. 2013; 15(3): 230–4. (in Russian)

2. On approval of the good manufacturing practice rules of the Eurasian Economic Union: Reshenie Soveta Evraz. ekon. komis. ot 03 noyab. 2016 g. № 77. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/456026099> (accessed 14 November 2023). (in Russian)

3. Sheryakov A. A. State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus: razrab. na osnove Evrop. Farmakopei: V 2 t. v. 1: General methods of medicines quality control. Molodechno: Pobeda; 2012. (in Russian)

4. State Standard ISO 11133-2016. *Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance determination of culture media*. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200141101> (accessed 14 November 2023). (in Russian)

5. Storage, preparation and quality control of nutrient media: instrukciya No. 079-0210. Ministry of Health of the Republic of Belarus 19.03.2010. Minsk; 2010. Available at: http://soligorskcg.by/index.php?option=com_content&view=article&id=3253:2012-02-28-13-42-19 (accessed 14 November 2023). (in Russian)

6. Kolomiec N. D., Tonko O. V., Serookaya T. I., et al. Microbiological methods of studying biological material: instrukciya po primeneniyu No. 075-2010. Ministry of Health of the Republic of Belarus 19.03.2010. Minsk; 2010. 122 p. (in Russian)

7. Filonov V. P., ed. Methods for testing and assessing the antimicrobial activity of disinfectants and antiseptics: instrukciya po primeneniyu No. 11-20-204-2003. Ministry of Health of the Republic of Belarus 22.12.2003. Minsk; 2003. 41 p. (in Russian)

8. Determination of bactericidal activity of antiseptics and disinfectants by membrane filtration method: instrukciya po primeneniyu No. 34-0102. Ministry of Health of the Republic of Belarus 11.07.2002. Minsk; 2002. 12 p. (in Russian)

9. Gudkov V. G., Pugach V. V., Gorbunov V. A. et al. Reference strains of bacteria and fungi from the collection BELRIEM® – perspective national laboratory standards for microbiological assays. *Med Novosti*. 2022; 11: 49–52. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/etalonnye-shtammy-bakteriy-i-gribov-iz-kollektsii-belriem-perspektivnye-otchestvennye-laboratornye-standarty-dlya/viewer> (accessed 14 November 2023). (in Russian)

10. Marejko M. A., Serookaya T. I., Titov L. P. et al. Methods for determining the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs: instrukciya po primeneniyu No. 226-1200. Ministry of Health of the Republic of Belarus 13.11.2008. Minsk; 2008. 83 p. (in Russian)

e-mail для переписки: vgudkov@belriem.by

Поступила 26.09.2024

УДК 616.284-002.3-022.7-093:615.015.8

Еременко Ю. Е., Титов Л. П.¹, Носова Е. С.¹, Сиделова С. И., Шестакова-Ткаченко Е. В.

СОСТАВ МИКРОФЛОРЫ, БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЕ И АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ИЗОЛЯТОВ БАКТЕРИЙ ОТ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ГНОЙНЫМ СРЕДНИМ ОТИТОМ

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр оториноларингологии»,
г. Минск, Республика Беларусь

¹ Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии
и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Устойчивость к антибиотикам является глобальной проблемой здравоохранения, связанной с ограничением терапии бактериальных инфекций. Одним из механизмов развития антибактериальной устойчивости является формирование биопленок. В статье представлены результаты исследования резистентности к антибактериальным лекарственным средствам пленкообразующих изолятов бактерий, выделенных от пациентов с хроническим гнойным средним отитом. Установлено, что самым распространенным видом микроорганизмов, вызывающих хронический гнойный средний отит, являлся *Staphylococcus aureus* (n = 20; 50 %); среди выделенных изолятов *S. aureus* 85 % (n = 17) обладали способностью к биопленкообразованию. Выявлен одинаково высокий уровень резистентности планктонных форм и биопленок к амоксициллину, азитромицину и цефалоспорином III поколения (МИК₉₀ ≥ 512 мг/л). Для карбапенемов, хлорамфеникола, линезолида и левофлоксацина наблюдалась статистически значимая разница МИК₉₀ для планктонных форм и биопленок (p < 0,05).

Ключевые слова: антибиотикорезистентность, хронический гнойный средний отит, микробный пейзаж, биопленки.

Введение. Хроническим гнойным средним отитом страдает от 65 до 330 млн человек во всем мире. Его распространенность колеблется от 1 до 46 % в зависимости от демографического региона и населения. Ежегодно регистрируется около 31 млн новых случаев [1].

Хронический гнойный средний отит является мультифакторным заболеванием, немаловажную роль в патогенезе которого играют микроорганизмы [2]. По данным ряда авторов, основными этиологически значимыми патогенами, вызывающими хронический гнойный средний отит, являются *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*, которые считаются клинически значимыми из-за способности образовывать биопленки, устойчивые к антибактериальным лекарственным средствам. Также *Streptococcus pneumoniae*, являющийся распространенным патогеном при остром среднем отите, может приводить к формированию хронического гнойного среднего отита. Другие виды бактерий, выявленные у пациентов с хроническим отитом, включают: *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Proteus spp.* и анаэробные микроорганизмы, такие как *Peptostreptococcus spp.* и некоторые виды *Prevotella* [1, 3–7].

В стандартном культуральном исследовании Ху J. et al. (2021) у пациентов с хроническим гнойным средним отитом самыми распространенными микроорганизмами были *S. aureus* (44,9 %), *P. aeruginosa* (16,9%) и коагулазонегативный стафилококк (8,5 %). Среди полученных изолятов *S. aureus*

18,9 % были метициллин-резистентными. Множественная лекарственная устойчивость *P. aeruginosa* выявлена у 10 % всех пациентов с наличием данного микроорганизма [4].

В рутинном микробиологическом исследовании Al-Ani R.M. et al. (2021) у пациентов с хроническим гнойным средним отитом наиболее часто выделяемыми микроорганизмами были *P. aeruginosa* (57,5 %) и *S. aureus* (16,8 %) [5].

В исследовании Wan Draman W.N.A. et al. (2021) у пациентов с хроническим гнойным средним отитом наиболее распространенными бактериями были *P. aeruginosa* (32,6 %), *S. aureus* (16,9 %) и *Klebsiella spp.* (5,6 %) [6].

К причинам, способствующим росту антибиотикорезистентности бактерий, относятся такие факторы, как нерациональное использование антимикробных лекарственных средств, несвоевременная антибиотикотерапия, несоблюдение комплаенса, применение антибиотиков в пищевой промышленности [8].

Одним из механизмов приспособления бактерий к неблагоприятным условиям существования, следствием чего является антибактериальная резистентность, является образование биопленок [8, 9]. Биопленки имеют ряд преимуществ с точки зрения выживания бактерий и представляют собой сложные трехмерные структуры, играющие существенную роль в патогенезе, поскольку они могут уклоняться от иммунного ответа и обладать высокой устойчивостью к обычным противомикробным лекарственным средствам. Бактериальные пленки образуются сообществами микроорганизмов, которые встроены в самопродуцируемые внеклеточные полимерные структуры, состоящие из полисахаридов, внеклеточных ДНК, секретируемых белков и липидов [9]. Эти полимерные вещества играют жизненно важную роль в структуре биопленок, передаче сигналов, улавливании питательных веществ и воды, а также генетическом обмене. Микроорганизмы внутри биопленки могут общаться друг с другом с помощью молекулярных механизмов межклеточной коммуникации – *quorum sensing*, которые заставляют одни клетки уклоняться от антибактериальной терапии, благодаря пребыванию в «спящем» состоянии (клетки-персистеры), а другие – погибать [9, 10].

Таким образом, резистентность к антибактериальным лекарственным средствам является актуальной проблемой, обусловленной риском воздействия на человека, что диктует необходимость выполнения научных исследований в отношении инфекций, вызванных пленкообразующей, резистентной к антибактериальной терапии микрофлорой, а также рационального подхода к назначению антибактериальных лекарственных средств.

Цель работы – определить микробный пейзаж и резистентность к антибактериальным лекарственным средствам изолятов пленкообразующих бактерий, выделенных у пациентов с хроническим гнойным средним отитом.

Материалы и методы. Для установления микробного пейзажа и профилей резистентности пленкообразующих бактерий проведено одномоментное когортное исследование 35 пациентов с диагнозом «Хронический средний отит», проходивших лечение в ГУ «Республиканский научно-практический центр оториноларингологии» за период 2018–2020 годы; средний возраст пациентов составил 44,7 года (36,5; 56,0); среди пациентов было 16 мужчин (45,7 %) и 19 женщин (54,3 %).

У всех пациентов осуществлялось взятие биоматериала (отделяемого из уха/ушей) путем аспирации в соответствии с инструкцией по применению «Организация микробиологических исследований при внебольничных инфекциях», утвержденной Министерством здравоохранения Республики Беларусь от 18 ноября 2011 г., № 082-0811 [11].

Нативный материал доставляли в лабораторию в максимально короткие сроки (не позднее 1,5–2 ч после их получения) при комнатной температуре 20–25 °С. Для транспортировки использовали среду Эймса с углем (Сорап, Италия).

Все пробы отделяемого из уха высевались штриховым методом на шоколадный агар для выделения широкого спектра микроорганизмов. Дополнительно производился посев на гонококкагар для *Neisseria spp.* (Conda, Испания), агар для культивирования *Haemophilus spp.* (Oxoid, Великобритания), среду Сабуро для культивирования *Candida spp.* (Химмедсинтез, Беларусь), среду Эндо для выделения энтеробактерий (HiMedia, Индия), среду Энтерококк агар для культивирования *Enterococcus spp.* (HiMedia, Индия), селективную питательную среду конго рот (ТУ BY100558032.143-200, РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Беларусь), предназначенную для выделения и дифференциации патогенных и условно-патогенных бактерий из различных клинических источников, в том числе и содержимого, полученного из среднего уха.

Определение количества бактерий в 1 мл производилось методом разведений и секторных посевов. После инкубации при температуре 37 °С в течение 18–24 ч подсчитывали количество колоний

в секторах и определяли число бактерий в 1 мл. Условно-патогенный микроорганизм считался этиологически значимым в случае, если он высевался в дозе $\geq 10^5$ КОЕ/мл. Окончательную биохимическую идентификацию микроорганизмов и определение чувствительности к антибиотикам проводили на автоматическом бактериологическом анализаторе Vitek 2 Compact (Biomerieux, Франция). Через 12–18 ч учитывали результаты и интерпретировали в соответствии с руководством Европейского комитета по определению чувствительности к антимикробным препаратам (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing – EUCAST)*. Определение чувствительности планктонных форм и изолятов с высокой и умеренной способностью к пленкообразованию проводили к 11 антимикробным лекарственным средствам [8].

Способность к биоопленкообразованию определяли с помощью окрашивания генцианвиолетом с последующей спектрофотометрией [12].

Статистическая обработка проведена в соответствии с требованиями концепции доказательной медицины с использованием непараметрических методов исследования, в том числе методов описательной статистики, оценки достоверности. Расчеты проведены в программах Statistica 10.0 и SPSS 23.0.

Результаты и их обсуждение. В результате проведенных исследований были получены 40 изолятов в этиологически значимом количестве (КОЕ/мл $\geq 10^5$) от 35 пациентов с хроническим гнойным средним отитом. Выделенный микробный пейзаж представлен на рисунке 1.

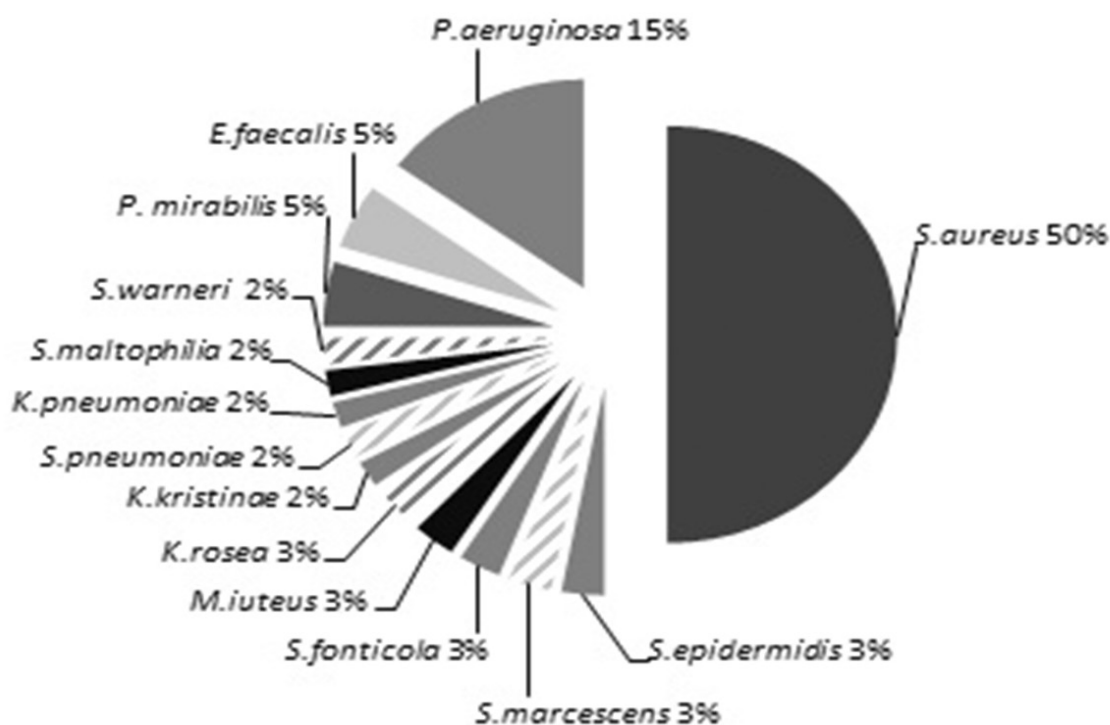


Рисунок 1 – Микробный пейзаж пациентов с хроническим гнойным средним отитом

Как показано на рисунке 1, получены изоляты 14 видов микроорганизмов, относящихся к представителям 7 семейств и 10 родов:

– семейство *Enterobacteriaceae*, 4 представителя 3 родов: *Serratia* (*S. fonticola* (n = 1), *S. marcescens* (n = 1)), *Proteus* (*P. mirabilis* (n = 2)), *Klebsiella* (*K. pneumoniae* (n = 1));

– семейство *Staphylococcaceae*, 3 вида рода *Staphylococcus*: *S. aureus* (n = 20), *S. warneri* (n = 1) и *S. epidermidis* (n = 1);

– семейство *Micrococcaceae*, 3 представителя 2 родов: *Micrococcus* (*M. luteus*, n = 1) и *Kocuria* (*K. kristinae* (n = 1), *K. rosea* (n = 1));

– семейство *Pseudomonadaceae*, род *Pseudomonas*, вид *P. aeruginosa* (n = 6);

– семейство *Streptococcaceae*, род *Streptococcus*, вид *S. pneumoniae* (n = 1);

– семейство *Enterococcaceae*, род *Enterococcus*, вид *E. faecalis* (n = 2);

– семейство *Xanthomonadaceae*, род *Stenotrophomonas*, вид *S. maltophilia* (n = 1).

* <https://www.antibiotic.ru/eucast/>

У 30 пациентов (86 %) с хроническим гнойным средним отитом наблюдалась моноинфекция и преобладающим условно-патогенным микроорганизмом в этиологически значимом количестве являлся *S. aureus*.

У 5 пациентов (14 %) наблюдалась микст-инфекция, представленная ассоциацией грамположительной и грамотрицательной микрофлоры: *M. luteus* + *K. kristinae*, *S. aureus* + *S. maltophilia*, *S. aureus* + *S. marcescens*, *P. mirabilis* + *K. rosea*, *S. aureus* + *P. aeruginosa*.

Способность к биопленкообразованию была выявлена у 82,5 % (33 из 40) исследованных изолятов (таблица 1).

Таблица 1 – Способность к биопленкообразованию бактерий (n = 40), выделенных от пациентов с хроническим гнойным средним отитом

Вид микроорганизма	Количество изолятов (%)
Высокая способность к биопленкообразованию, n = 20 из 40 (50)	
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 из 20 (50)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5 из 20 (25)
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 из 20 (5)
<i>Staphylococcus warneri</i>	1 из 20 (5)
<i>Proteus mirabilis</i>	1 из 20 (5)
<i>Serratia fonticola</i>	1 из 20 (5)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 из 20 (5)
Умеренно высокая способность к биопленкообразованию, n = 10 из 40 (25)	
<i>Staphylococcus aureus</i>	6 из 10 (60)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 из 10 (10)
<i>Proteus mirabilis</i>	1 из 10 (10)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 из 10 (10)
<i>Serratia marcescens</i>	1 из 10 (10)
Слабая способность к биопленкообразованию, n = 3 из 40 (7,5)	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 из 3 (33,3)
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 из 3 (33,3)
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 из 3 (33,3)
Отсутствует способность к биопленкообразованию, n = 7 из 40 (17,5)	
<i>Staphylococcus aureus</i>	3 из 7 (42,8)
<i>Micrococcus luteus</i>	1 из 7 (14,3)
<i>Kocuria kristinae</i>	1 из 7 (14,3)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1 из 7 (14,3)
<i>Kocuria rosea</i>	1 из 7 (14,3)

Как видно из таблицы 1, у 20 изолятов (50 %) была установлена высокая способность к образованию биопленок, у 10 изолятов (25 %) – умеренно высокая, у 3 изолятов (7,5 %) – слабая способность к биопленкообразованию.

Среди всех изолятов *S. aureus* (n = 20) 85 % (17 из 20) обладали способностью к биопленкообразованию. Все изоляты *P. aeruginosa* (n = 6, 100 %) также обладали способностью к биопленкообразованию.

Получены минимальные ингибирующие концентрации (МИК₉₀) для всех выделенных изолятов планктонной формы и бактерий, характеризующихся высокой и умеренной способностью к пленкообразованию. Сравнительная характеристика МИК₉₀ биопленок и планктона представлена на рисунке 2.

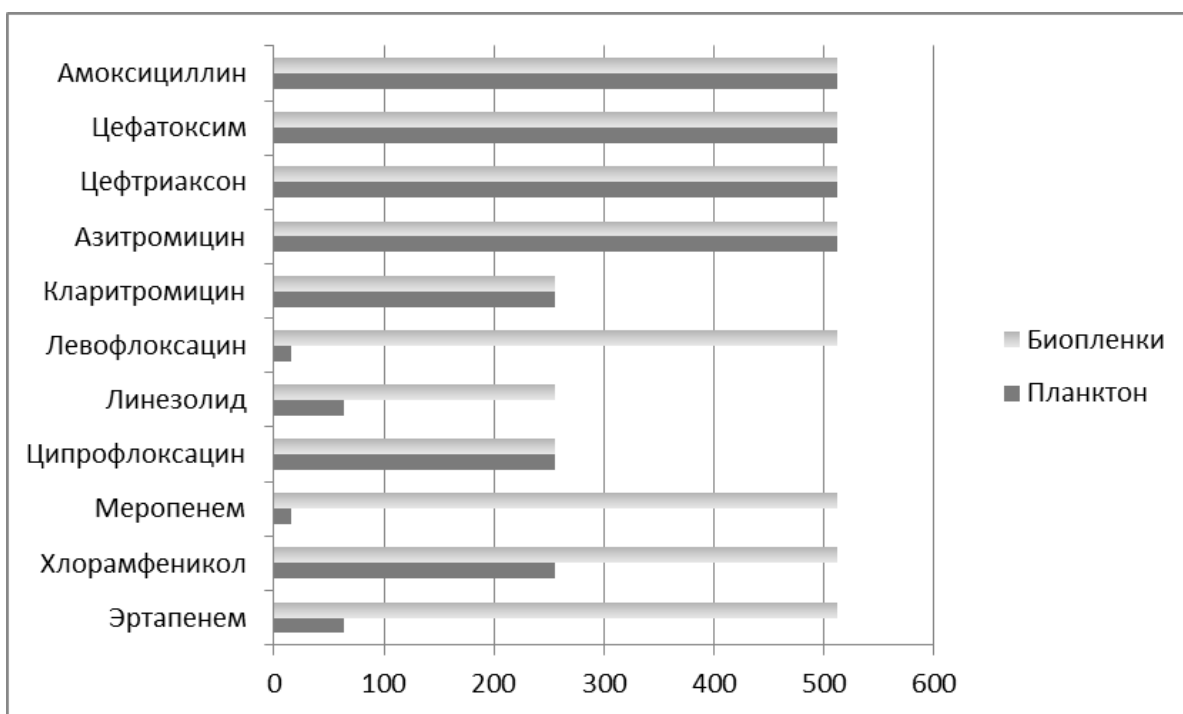


Рисунок 2 – МИК₉₀ для биопленок и планктонных бактерий, выделенных от пациентов хроническим гнойным средним отитом

На рисунке 2 показан высокий уровень резистентности планктонных форм и биопленок к амоксициллину, азитромицину и цефалоспорином III поколения (МИК₉₀ ≥ 512 мг/л).

Для кларитромицина и ципрофлоксацина значение МИК₉₀ для биопленок и планктона было одинаково (256 мг/л).

Для карбапенемов выявлены значительно более высокие значения МИК₉₀ биопленок по сравнению со значением для планктона: ≥ 512 мг/л и 64 мг/л (эртапенем) / 16 мг/л (меропенем) соответственно (p < 0,05).

Для хлорамфеникола значение МИК₉₀ биопленок составило 512 мг/л, МИК₉₀ для планктона – 256 мг/л (p < 0,05).

Для левифлоксацина выявлены значительно более высокие значения МИК₉₀ биопленок по сравнению со значением для планктона: ≥ 512 мг/л и 16 мг/л соответственно (p < 0,05).

Для линезолида значение МИК₉₀ биопленок составило 256 мг/л, что в 4 раза выше по сравнению со значением для планктона: ≥ 64 мг/л соответственно (p < 0,05).

Заключение. Самым распространенным видом микроорганизмов среди выделенных у пациентов с хроническим гнойным средним отитом изолятов являлся *Staphylococcus aureus* (n = 20; 50 %). Среди выделенных изолятов *Staphylococcus aureus* 85 % (n = 17) обладали способностью к биопленкообразованию.

У 30 пациентов (86 %) с хроническим гнойным средним отитом наблюдалась моноинфекция, у 5 пациентов (14 %) – микст-инфекция, представленная ассоциацией грамположительной и грамотрицательной микрофлоры. Выявлен высокий уровень резистентности планктонных форм и биопленок к амоксициллину, азитромицину и цефалоспорином III поколения (МИК₉₀ ≥ 512 мг/л). Для кларитромицина и ципрофлоксацина значение МИК₉₀ было одинаково для биопленок и планктона (256 мг/л). Для карбапенемов, хлорамфеникола, линезолида и левифлоксацина наблюдалась статистически значимая разница МИК₉₀ для планктонных форм и биопленок (p < 0,05).

Полученные данные свидетельствуют о необходимости мониторинга видового разнообразия и способности бактерий к пленкообразованию с учетом проблемы нарастающей антибиотикорезистентности во всем мире у пациентов с хроническим гнойным средним отитом.

Сведения о НИР. НИР «Разработать и внедрить метод диагностики и лечения воспалительных заболеваний среднего уха и полости носа, вызванных пленкообразующими и резистентными к антибиотикам бактериями» подпрограммы «Инфекции и биологическая безопасность» ГНТП «Новые методы оказания медицинской помощи», 2016–2020 годы, регистрационный номер 20171909.

Литература

1. Chronic suppurative otitis media: a comprehensive review of epidemiology, pathogenesis, microbiology, and complications / M. Khairkar, P. Deshmukh, H. Maity, V. Deotale // *Cureus*. – 2023. – Vol. 15, № 8. – P. e43729. – DOI: 10.7759/cureus.43729.
2. Юревич, В. В. Клиническая и патогенетическая информативность сочетанного исследования лабораторных показателей воспаления и состояния липидного обмена у пациентов с хроническим эпителиально-антральным гнойным средним отитом / В. В. Юревич, Е. В. Шестакова, Н. П. Муравейник // *Лабораторная диагностика. Восточная Европа*. – 2022. – Т. 11, № 3. – С. 309–316.
3. Kennedy, K. L. Middle ear cholesteatoma / K. L. Kennedy, A. K. Singh // *Treasure Island : StatPearls*, 2024. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448108/> (date of access: 15.04.2024).
4. Bacteriological profile of chronic suppurative otitis media and antibiotic susceptibility in a tertiary care hospital in Shanghai, China / J. Xu, Q. Du, Y. Shu [et al.] // *Ear, Nose, & Throat Journal*. – 2021. – Vol. 100, № 9. – P. NP391–NP396. – DOI: 10.1177/0145561320923823.
5. Al-Ani, R. M. Profile of aerobic bacteria and their antibiotic sensitivity in chronic suppurative otitis media in Al-Ramadi Teaching Hospital, Ramadi City, Iraq / R. M. Al-Ani, M. I. Al-Zubaidi, S. A. Lafi // *Qatar Medical Journal*. – 2021. – Vol. 2021, № 1. – DOI: 10.5339/qmj.2021.3.
6. Evaluation of the current bacteriological profile and antibiotic sensitivity pattern in chronic suppurative otitis media / W. N. A. Wan Draman, M. K. Md Daud, H. Mohamad [et al.] // *Laryngoscope Investigative Otolaryngology*. – 2021. – Vol. 6, № 6. – P. 1300–1306.
7. Recurrent otorrhea in chronic suppurative otitis media: is biofilm the missing link? / R. G. Jensen, H. K. Johansen, T. Bjarsholt [et al.] // *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. – 2017. – Vol. 274, № 7. – P. 2741–2747.
8. Проблема антибиотикорезистентности у пациентов с острым и хроническим риносинуситом / Ю. Е. Еременко, С. И. Сиделова, Е. В. Шестакова [и др.] // *Оториноларингология. Восточная Европа*. – 2020. – Т. 10, № 2. – С. 141–151.
9. Drago, L. Microbiological aspects of acute and chronic pediatric rhinosinusitis / L. Drago, L. Pignataro, S. Torretta // *Journal of Clinical Medicine*. – 2019. – Vol. 8, № 2. – DOI: 10.3390/jcm8020149.
10. Gondil, V. S. Biofilms and their role on diseases / V. S. Gondil, B. Subhadra // *BMC Microbiology*. – 2023. – Vol. 23, № 1. – DOI: 10.1186/s12866-023-02954-2.
11. Организация микробиологических исследований при внебольничных инфекциях : инструкция по применению № 082-0811 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 18.11.2011 г. / УО «Белорусский государственный медицинский университет», ГУ «Минский городской центр гигиены и эпидемиологии», М-во здравоохранения Респ. Беларусь ; И. А. Карпов, Н. В. Соловей, О. А. Горбич [и др.]. – Минск, 2011. – 14 с.
12. Формирование биопленок возбудителями имплантат-ассоциированной инфекции in vitro : учеб.-метод. пособие / И. В. Бабушкина, В. Ю. Ульянов, И. А. Мамонова, Е. В. Гладкова. – Саратов : Амирит, 2021. – 23 с.

Yaromenka Yu. E., Titov L. P.¹, Nosova E. S.¹, Sidelova S. I., Shastakova-Tkachenko K. V.

**COMPOSITION OF MICROFLORA, BIOFILM FORMATION
AND ANTIBIOTIC RESISTANCE OF BACTERIAL ISOLATES
FROM PATIENTS WITH CHRONIC SUPPURATIVE OTITIS MEDIA**

State Institution «Republican Scientific and Practical Center of Otorhinolaryngology», Minsk, Belarus

¹ *State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus*

Antibiotic resistance is a global health problem associated with limited treatment for bacterial infections. One of the mechanisms of the development of antibacterial resistance is the formation of biofilms. The article presents the results of a study of antibiotic resistance biofilm-forming isolates from patients with chronic suppurative otitis media. It was found that the most prevalent type of microorganisms causing chronic suppurative otitis media was *Staphylococcus aureus* (n = 20; 50 %); among the *S. aureus* isolates, 85 % (n = 17) had the ability to form biofilms. An equally high level of resistance of planktonic forms and biofilms to amoxicillin, azithromycin and third-generation cephalosporins (MIC₉₀ ≥ 512 mg/l) was revealed. For carbapenems, chloramphenicol, linezolid and levofloxacin, a statistically significant difference in MIC₉₀ for planktonic forms and biofilms was observed (p < 0.05).

Keywords: antibiotic resistance, chronic suppurative otitis media, microbial spectrum, biofilms.

References

1. Khairkar M., Deshmukh P., Maity H., Deotale V. Chronic suppurative otitis media: A comprehensive review of epidemiology, pathogenesis, microbiology, and complications. *Cureus*. 2023; 15(8): e43729. DOI: 10.7759/cureus.43729.
2. Yurevich V. V., Shestakova E. V., Muraveynik N. P. Clinical and pathogenetic information value of a combined study of laboratory indicators of inflammatory and the state of lipid metabolism in patients with chronic suppurative otitis media involving epitympanum. *Lab Diagn East Eur*. 2022; 11(3): 309–16. (in Russian)
3. Kennedy K. L., Singh A. K. Middle ear cholesteatoma. Treasure Island: StatPearls; 2024. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448108/> (accessed 15 April 2024).
4. Xu J., Du Q., Shu Y. et al. Bacteriological profile of chronic suppurative otitis media and antibiotic susceptibility in a tertiary care hospital in Shanghai, China. *Ear Nose Throat J*. 2021; 100(9): NP391–6. DOI: 10.1177/0145561320923823.
5. Al-Ani R.M., Al-Zubaidi M.I., Lafi S.A. Profile of aerobic bacteria and their antibiotic sensitivity in chronic suppurative otitis media in Al-Ramadi Teaching Hospital, Ramadi City, Iraq. *Qatar Med J*. 2021; 2021(1). DOI: 10.5339/qmj.2021.3.
6. Wan Draman W. N. A., Md Daud M. K., Mohamad H. et al. Evaluation of the current bacteriological profile and antibiotic sensitivity pattern in chronic suppurative otitis media. *Laryngoscope Investig Otolaryngol*. 2021; 6(6): 1300–6.
7. Jensen R. G., Johansen H. K., Bjarnsholt T. et al. Recurrent otorrhea in chronic suppurative otitis media: Is biofilm the missing link? *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2017; 274(7): 2741–7.
8. Eremenko Yu. E., Sidelova S. I., Shestakova E. V. et al. The problem of antibiotic resistance in patients with acute and chronic rhinosinusitis. *Otorhinolaryngol East Eur*. 2020; 10(2): 141–51. (in Russian)
9. Drago L., Pignataro L., Torretta S. Microbiological aspects of acute and chronic pediatric rhinosinusitis. *J Clin Med*. 2019; 8(2). DOI: 10.3390/jcm8020149.
10. Gondil V. S., Subhadra B. Biofilms and their role on diseases. *BMC Microbiol*. 2023; 23(1). DOI: 10.1186/s12866-023-02954-2.
11. Karpov I. A., Solovej N. V., Gorbich O. A. et al. Organization of microbiological studies for community-acquired infections: instrukciya po primeneniyu No. 082-0811. Ministry of Health of the Republic of Belarus 18.11.2011. Minsk; 2011. 14 p. (in Russian)
12. Babushkina I. V., Ul'yanov V. YU., Mamonova I. A., Gladkova E. V. Formation of biofilms by pathogens of implant-associated infection in vitro: ucheb.-metod. posobie. Saratov: Amirite; 2021. (in Russian)

e-mail для переписки: tkachenkocat@mail.ru

Поступила 16.09.2024

УДК 575.174.015.3:577.113.3:576.353.4:616-006.441-002.4-039.4

Зверко В. В., Григорьева Е. Е., Фомина Е. Г.

ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА RS909253 (A+252G), КОДИРУЮЩЕГО ЛИМФОТОКСИН-АЛЬФА, В ИССЛЕДОВАННОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Проведено генотипирование однонуклеотидного полиморфизма (далее – ОНП) гена rs909253 (A+252G) провоспалительного цитокина LT- α и проанализирована частота встречаемости его гомо- и гетерозиготных аллелей в исследуемой группе лиц. Установлено, что преобладающим является аллель «дикого» типа А, частота встречаемости которого составила 70,7 %, мутантный аллель

встречается в 29,3 % случаев. Полученные данные будут использованы при дальнейших исследованиях, направленных на изучение влияния LT- α ОНП rs909253 (A+252G) на формирование сепсиса у детей.

Ключевые слова: лимфотоксин-альфа, однонуклеотидный полиморфизм, полиморфизм длин рестрикционных фрагментов.

Введение. Лимфотоксин-альфа (LT- α , lymphotoxin-alpha, или tumor necrosis factor- β) представляет собой провоспалительный цитокин, который секретируется активированными лимфоцитами и участвует в регуляции иммунного ответа. Ген, кодирующий LT- α , картирован на хромосоме 6p21.3, имеет размер 2225 п. н. и содержит 4 экзона и 3 интрона [1]. Белок состоит из 171 аминокислотного остатка, собран в гомо- или гетеротример и представлен только в растворимой форме. Этот белок способен связываться с рецепторами фактора некроза опухоли 1-го и 2-го типов. По своему строению лимфотоксин-альфа на 35–50 % гомологичен фактору некроза опухоли. LT- α участвует в процессах противоопухолевой защиты. Он также является одним из важных регуляторов липидного обмена, и повышение его экспрессии вызывает развитие гиперхолестеринемии и гипертриглицеридемии. Показано, что при инфузии лимфотоксина в эндотелии активируются процессы клеточной адгезии и хемоаттракции. Увеличение активности лимфотоксина приводит к повышенной экспрессии фактора некроза опухоли, E-селектина, молекул клеточной адгезии (VCAM1), а также протеина хемоаттракции моноцитов (MCP1) [2].

Развитие некоторых заболеваний часто ассоциировано с полиморфными вариантами гена LT- α . Большое количество исследований посвящено изучению однонуклеотидного полиморфизма (ОНП) интрона 1 LT- α rs909253 (A+252G). Данный ОНП ассоциируется с различными заболеваниями. Так, среди населения Египта установлена достоверная связь между генотипом AG и развитием системной красной волчанки и ревматоидного артрита [3]. В исследованиях, проведенных в странах Европы, ОНП LT- α rs909253 (A+252G) достоверно ассоциирован с риском развития тяжелого сепсиса у детей [4]. Среди азиатского населения статистически достоверной является взаимосвязь между исследуемым ОНП и раком желудка [5]. В группе кавказцев была установлена положительная корреляция между риском развития кожных осложнений при саркоидозе и генотипом GG в локусе rs909253 и ОНП A+252G [6]. Значимая ассоциация между полиморфизмом LT- α rs909253 и риском развития рака молочной железы и рака шейки матки выявлена у представителей европеоидной расы [7, 8]. Таким образом, результаты проведенных многочисленных исследований указывают на различную роль данного ОНП в развитии заболеваний среди разных этнических групп.

Представляет интерес распространенность исследуемого полиморфизма среди жителей Республики Беларусь для прогнозирования в будущем его влияния на развитие сепсиса у детей.

Цель работы – провести генотипирование однонуклеотидного полиморфизма гена rs909253 (A+252G) провоспалительного цитокина LT- α и проанализировать частоту его встречаемости в исследуемой группе лиц, проживающей на территории Республики Беларусь.

Материалы и методы. В работе использовали образцы периферической крови 94 добровольцев (в том числе 40 пациентов с сепсисом). Забор крови осуществлялся в УЗ «Городская детская инфекционная клиническая больница» с информированного согласия респондентов. Возраст исследуемых лиц составил 1–18 лет.

Выделение геномной ДНК проводили методом преципитации с использованием набора реагентов «НК экстра» (РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Республика Беларусь) в соответствии с прилагаемой инструкцией. ДНК выделяли из ядросодержащих клеток, полученных из 1 мл крови.

Постановку ПЦР осуществляли на приборе Quant Studio 5 (Applied Biosystems, США) с использованием специфических олигонуклеотидов: (F) 5'CCGTGCTTCGTGCTTTGGACTA3'; (R) 5'AGAGGGGTGGATGCTTGGGTTC3', синтезированных ООО «АртБиоТех» (Республика Беларусь) [9]. Состав реакционной смеси: 5 мкл 10xTaq-буфера (АртБиоТех, Республика Беларусь); 1,5 мкл 50 mM MgCl₂; 1 мкл дНТФ (10 mM каждого); по 20 pM соответствующих праймеров; 1,25 ед. Taq-полимеразы (АртБиоТех, Республика Беларусь); 2,5 мкл ДНК; деионизованная вода до конечного объема 50 мкл. Режим амплификации: 95 °C – 5 минут; 94 °C – 45 секунд, 62 °C – 45 секунд, 72 °C – 60 секунд x35 циклов; 72 °C – 5 минут – 1 цикл.

Рестриктию амплифицированных фрагментов проводили согласно условиям, описанным в инструкции по применению к рестриктазе NcoI производства Thermo Scientific (США), при 37 °C в течение 2 часов в конечном объеме 15 мкл. Анализ образующихся фрагментов (рестрикт-тов) осуществляли методом гель-электрофореза в 1,5 % агарозном геле. В качестве электродного

буфера использовали однократный TBE-буфер. Для визуализации анализируемых фрагментов ДНК гель окрашивали раствором бромистого этидия с последующим просмотром в ультрафиолетовом свете на трансиллюминаторе.

Для оценки соответствия распределения генотипов ожидаемым значениям использовали закон равновесия Харди – Вайнберга (онлайн-калькулятор <https://wpcalc.com/en/equilibrium-hardy-weinberg/>) [10, 11].

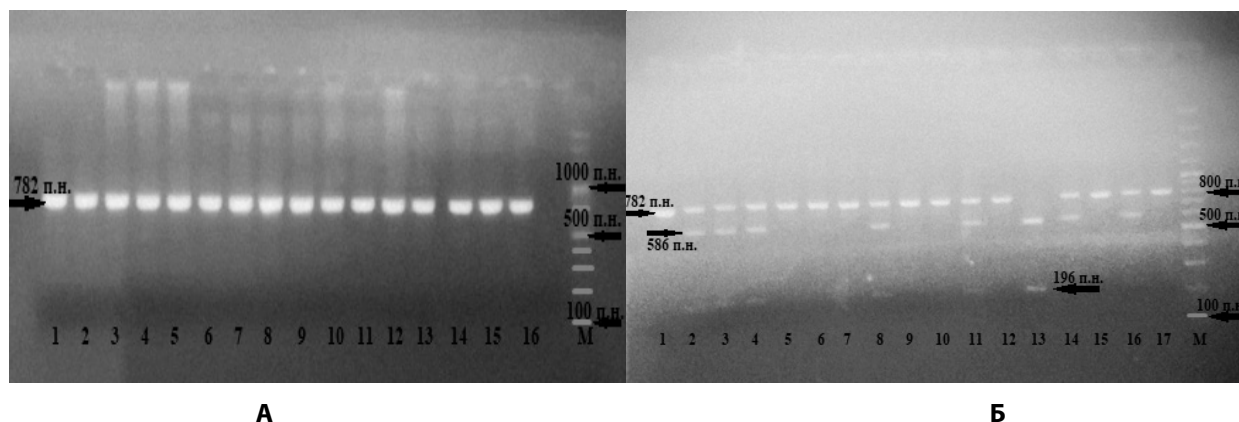
Результаты и их обсуждение. Однонуклеотидный полиморфизм A+252G гена, кодирующего LT-α, связан с заменой аденина (A) на гуанин (G). Наличие нуклеотида G в данном положении в геноме приводит к появлению сайта рестрикции (5' C A T G G 3' / 3' G G T A C T C 5'), который распознается рестриктазой NcoI.

Для детекции полиморфных вариантов исследуемого фрагмента гена был использован метод полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ), способ исследования геномной ДНК путем разрезания ДНК с помощью эндонуклеаз рестрикции и дальнейшего анализа размеров образующихся фрагментов (рестриктов) путем гель-электрофореза в агарозном геле (таблица 1) [1–9].

Таблица 1 – Анализ полиморфизма геномной последовательности LT-α методом ПДРФ

Исследуемый ОНП	Локализация ОНП	Рестриктаза	Размер ПЦР продукта, п. н.	Фрагменты, образующиеся при рестрикции, п. н.
A+252G rs909253	6p21.3 1 интрон	NcoI	782	G = 586 и 196, A = 782

С применением подобранных специфических праймеров методом ПЦР на матрице ДНК, выделенной из клеток крови, были получены амплификаты размером 782 п. н. (n = 94), что соответствует, по данным литературы, размеру фрагмента гена, кодирующего белок LT-α. Результаты амплификации проанализированы методом электрофореза (рисунок 1 А).



А) 1–16 – амплификаты, полученные с использованием специфических праймеров;
 Б) 1 – амплификат, не обработанный рестриктазой NcoI; 2–17 – амплификаты, обработанные рестриктазой NcoI;
 М – маркер молекулярных масс (100 bp Plus DNA Ladder, Thermo Scientific, США).

Рисунок 1 – Электрофоретический анализ продуктов амплификации и рестрикции фрагментов гена LT-α

Проведен анализ наличия сайтов рестрикции и размеров образованных рестриктов. Подвижность, определяющая длину ампликонов, сравнивалась с подвижностью стандартных фрагментов ДНК-маркера в агарозном геле при окрашивании бромистым этидием. В случае гомозиготного состояния по аллелю мутантного типа G после рестрикции наблюдалось образование двух фрагментов, размер которых составил 586 и 196 п. н., что свидетельствует о наличии сайта рестрикции. При гомозиготном «диком» состоянии аллеля A (при отсутствии сайта рестрикции) амплифицированный фрагмент гена LT-α не гидролизировался рестриктазой (782 п. н.). О гетерозиготном мутантном состоянии свидетельствовало наличие как не гидролизованного рестриктазой фрагмента размером 782 п. н., так и дополнительных двух фрагментов размером 586 и 196 п. н. Репрезентативные результаты полученных амплификатов и рестриктов представлены на рисунке 1.

На рисунке 1 Б показано, что аллель G обнаружен в образцах № 2–4, 8, 11, 14 и 16 (мутантный тип, генотип AG), № 13 (мутантный тип, генотип GG). В образцах № 5–7, 9, 10, 12, 15 и 17 аллель A находится в гомозиготном состоянии (дикий тип, генотип AA).

Среди исследуемой группы добровольцев установлено, что 47 респондентов (50,0 %) являются гомозиготными по аллелю A. Мутантный аллель G в гомозиготном состоянии обнаружен только в 8 образцах ДНК (8,6 %). Гетерозиготными по аллелям G и A были 39 исследованных лиц (41,4 %) (таблица 2).

Таблица 2 – Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного локуса rs909253 гена LT- α

Ген (полиморфизм)	Частота генотипа, n (%)			χ^2	Частота основного аллеля, %	Частота минорного аллеля, %
	AA	AG	GG		A	G
LT- α (A+252G)	47 (50,0)	39 (41,4)	8 (8,6)	0,0005	70,7	29,3

Наблюдаемое распределение генотипов в исследуемой выборке соответствовало равновесию Харди – Вайнберга (χ^2 применен для оценки соответствия наблюдаемого распределения генотипов ожидаемому).

Заключение. Таким образом, с использованием метода полиморфизма длин рестриционных фрагментов проведено генотипирование ОНП LT- α rs909253 (A+252G) и проанализирована частота его встречаемости у 94 добровольцев, проживающих на территории Республики Беларусь. Установлено, что преобладающим является аллель «дикого» типа A, частота встречаемости которого составила 70,7 %. Мутантный аллель G в исследованной популяции встречается в 29,3 % случаев. Подобное распределение аллелей характерно для населения ряда европейских стран: частота встречаемости гомозиготного мутантного аллеля составляет 6,8 % у жителей Сербии, 7,7 % у поляков [12, 13]. Гомозиготные генотипы AA и GG встречались с частотой 50,0 % и 8,6 % соответственно, гетерозиготный GA – 41,4 %. Полученные данные будут использованы при дальнейших исследованиях, направленных на изучение влияния LT- α ОНП rs909253 (A+252G) на формирование сепсиса у детей.

Сведения о НИР. НИР «Разработать алгоритм прогнозирования неблагоприятного течения сепсиса у детей, основанный на комплексной оценке иммунологических, биохимических и молекулярно-генетических маркеров» подпрограммы «Геномные технологии и инфекционная безопасность» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», 2021–2025 годы, регистрационный номер 20220148.

Литература

1. Associations of lymphotoxin-a (LTA) rs909253 A/G gene polymorphism, plasma level and risk of ankylosing spondylitis in a Chinese Han population / A. Zhu, Z. Yang, H. Zhang, R. Liu // Scientific Reports. – 2020. – Vol. 10, № 6. – P. 1412.
2. Генетический полиморфизм генов цитокинов системы воспаления и состояние сосудистой стенки у больных артериальной гипертензией / Л. О. Минушкина, О. Ю. Асейчева, М. С. Кочкина [и др.] // Артериальная гипертензия. – 2017. – Т. 23, № 2. – С. 103–111.
3. Association between TNF promoter -308 G>A and LTA 252 A>G polymorphisms and systemic lupus erythematosus / H. H. Ahmed, F. M. Taha, H. E.-S. Darweesh [et al.] // Molecular Biology Reports. – 2014. – Vol. 41. – P. 2029–2036.
4. Association of tumor necrosis factor β genetic polymorphism and sepsis susceptibility / F. Delongui, C. M. Carvalho Grion, M. A. Ehara Watanabe [et al.] // Experimental and Therapeutic Medicine. – 2011. – Vol. 2, № 2. – P. 349–356.
5. LTA 252GG and GA genotypes are associated with diffuse-type noncardia gastric cancer risk in the Japanese population / G. Suzuki, H. Cullings, S. Fujiwara [et al.] // Helicobacter. – 2009. – Vol. 14, № 6. – P. 571–579.
6. Variation in the lymphotoxin-alpha/tumor necrosis factor locus modifies risk of erythema nodosum in sarcoidosis / K. E. McDougal, M. D. Fallin, D. R. Moller [et al.] // The Journal of Investigative Dermatology. – 2009. – Vol. 129, № 8. – P. 1921–1926.
7. Genetic variation in tumor necrosis factor and lymphotoxin-alpha (TNF-LTA) and breast cancer risk / M. M. Gaudet, K. M. Egan, J. Lissowska [et al.] // Human Genetics. – 2007. – Vol. 121, № 3–4. – P. 483–490.

8. Characterization of single-nucleotide polymorphisms in the tumor necrosis factor α promoter region and in lymphotoxin α in squamous intraepithelial lesions, precursors of cervical cancer / M. Nieves-Ramirez, O. Partida-Rodriguez, P. E. Alegre-Crespo [et al.] // *Translational Oncology*. – 2011. – Vol. 4, № 6. – P. 336–344.

9. Tumor necrosis factor- β NcoI polymorphism and susceptibility to sepsis following major elective surgery / K. Baghel, R. N. Srivastava, A. Chandra [et al.] // *Surgical Infections*. – 2014. – Vol. 15, № 3. – P. 213–220.

10. Rodriguez, S. Hardy-Weinberg equilibrium testing of biological ascertainment for Mendelian randomization studies / S. Rodriguez, T. R. Gaunt, I. N. Day // *American Journal of Epidemiology*. – 2009. – Vol. 169, № 4. – P. 505–514.

11. Ryckman, K. Calculation and use of the Hardy-Weinberg model in association studies / K. Ryckman, S. M. Williams // *Current Protocols in Human Genetics*. – 2008. – Ch. 1, Unit 1.18.

12. Genetic variants in TNFA, LTA, TLR2 and TLR4 genes and risk of sepsis in patients with severe trauma: nested case-control study in a level-1 trauma centre in Serbia / O. Djuric, M. Andjelkovic, M. Vreca [et al.] // *Injury*. – 2021. – Vol. 52, № 3. – P. 419–425.

13. Genetic variants in T helper cell type 1, 2 and 3 pathways and gastric cancer risk in a Polish population / R. Mahajan, E. M. El-Omar, J. Lissowska [et al.] // *Japanese Journal of Clinical Oncology*. – 2008. – Vol. 38, № 9. – P. 626–633.

Zverko V. V., Grigorieva E. E., Fomina E. G.

FREQUENCY OF OCCURRENCE OF SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM OF THE LYMPHOTOXIN-ALPHA RS909253 (A+252G) GENE IN THE STUDIED POPULATION

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

Genotyping of the single nucleotide polymorphism (hereinafter – SNP) rs909253 (A+252G) of the proinflammatory cytokine Lymphotoxin-alpha (LT- α) was performed and the frequency of occurrence of its homo- and heterozygous alleles in the studied group of individuals was analyzed. It was found that the predominant allele is the «wild» type A with the frequency of occurrence 70.7 %, the mutant allele occurs in 29.3 % of cases. The data obtained will be used in further studies aimed at investigating the influence of LT- α SNP rs909253 (A+252G) on sepsis formation in children.

Keywords: lymphotoxin-alpha, single nucleotide polymorphism, restriction fragment length polymorphism.

References

1. Zhu A., Yang Z., Zhang H., Liu R. Associations of lymphotoxin-a (LTA) rs909253 A/G gene polymorphism, plasma level and risk of ankylosing spondylitis in a Chinese Han population. *Sci Rep* 2020; 10(1): 1412.

2. Minushkina L. O., Aseycheva O. Yu., Kochkina M. S. et al. Genetic polymorphism of the inflammatory cytokine genes and arterial wall properties in hypertensive patients. *Arterial'naya gipertenziya*. 2017; 23(2): 103–111. (In Russian)

3. Ahmed H. H., Taha F. M., Darweesh H. E.-S. et al. Association between TNF promoter -308 G>A and LTA 252 A>G polymorphisms and systemic lupus erythematosus. *Mol Biol Rep*. 2014; 41: 2029–36.

4. Delongui F., Carvalho Grion C. M., Ehara Watanabe M. A. et al. Association of tumor necrosis factor β genetic polymorphism and sepsis susceptibility. *Exp and Ther Med*. 2011; 2(2): 349–56.

5. Suzuki G., Cullings H., Fujiwara S. et al. LTA 252GG and GA genotypes are associated with diffuse-type noncardia gastric cancer risk in the Japanese population. *Helicobacter*. 2009; 14(6): 571–9.

6. K. E. McDougal, M. D. Fallin, D. R. Moller et al. Variation in the lymphotoxin-alpha/tumor necrosis factor locus modifies risk of erythema nodosum in sarcoidosis. *J of Invest Dermatol*. 2009; 129(8): 1921–6.

7. Gaudet M. M., Egan K. M., Lissowska J. et al. Genetic variation in tumor necrosis factor and lymphotoxin-alpha (TNF-LTA) and breast cancer risk. *Hum Genet*. 2007; 121(3-4): 483–90.

8. Nieves-Ramirez M. E., Partida-Rodriguez O., Alegre-Crespo P. E. et al. Characterization of single-nucleotide polymorphisms in the tumor necrosis factor α promoter region and in lymphotoxin α in squamous intraepithelial lesions, precursors of cervical cancer. *Transl Oncol*. 2011; 4(6): 336–44.

9. Baghel K., Srivastava R. N., Chandra A. et al. Tumor necrosis factor- β NcoI polymorphism and susceptibility to sepsis following major elective surgery. *Surg Infect (Larchmt)*. 2014; 15(3): 213–20.

10. Rodriguez S., Gaunt T. R., Day I. N. Hardy-Weinberg equilibrium testing of biological ascertainment for Mendelian randomization studies. *Am J of Epidemiol*. 2009; 169(4): 505–14.

11. Ryckman K., Williams S. M. Calculation and use of the Hardy-Weinberg model in association studies. *Curr Protoc in Hum Genet*. 2008; Ch. 1, Unit 1.18.

12. Djuric O., Andjelkovic M., Vreca M. et al. Genetic variants in TNFA, LTA, TLR2 and TLR4 genes and risk of sepsis in patients with severe trauma: nested case-control study in a level-1 trauma centre in SERBIA. *Injury*. 2021; 52(3): 419–25.

13. Mahajan R., El-Omar E. M., Lissowska J. et al. Genetic variants in T helper cell type 1, 2 and 3 pathways and gastric cancer risk in a Polish population. *Jpn J of Clin Oncol*. 2008; 38(9): 626–33.

e-mail для переписки: zverko-v88@bk.ru

Поступила 07.10.2024

УДК 616.155.392-036.11:616.157-022

Стаина В. А., Лендина И. Ю., Власенкова С. В., Искров И. А.¹

ИНФЕКЦИИ КРОВотоКА У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМИ ЛЕЙКОЗАМИ

Государственное учреждение «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии», г. Минск, Республика Беларусь

¹ Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Инфекции кровотока являются одной из основных причин заболеваемости и летальности среди пациентов с острыми лейкозами, получающих химиотерапию [1]. В исследование включено 65 эпизодов инфекции кровотока у 43 пациентов с острыми лейкозами в период миелотоксического агранулоцитоза. Среди возбудителей инфекций кровотока преобладает грамотрицательная флора, представленная преимущественно *Klebsiella pneumoniae* и *Escherichia coli*, с высокой частотой карбапенем-резистентных штаммов (85 % штаммов *Klebsiella pneumoniae*). Совпадение чувствительности к антибактериальным препаратам контаминантов слизистых оболочек и возбудителей инфекций кровотока выявлено в 83,3 % случаев.

Ключевые слова: острый лейкоз, миелотоксический агранулоцитоз, фебрильная нейтропения, инфекции кровотока, карбапенем-резистентность.

Введение. Острый лейкоз – опухолевое новообразование гемопоэтической ткани с первичным поражением костного мозга, морфологическим субстратом которого является бластная клетка. Программная терапия острого лейкоза включает противоопухолевую (цитостатическую) химиотерапию и сопроводительное лечение. Инфекции являются одной из основных причин заболеваемости и летальности среди пациентов, получающих химиотерапию. Бактериальные инфекции кровотока регистрируются у 20–25 % пациентов в период миелотоксического агранулоцитоза на фоне химиотерапии. Летальность при неадекватной антибактериальной терапии у таких пациентов составляет 50 % и более, в то время как при адекватной антибактериальной терапии – менее 12 %. Проведение рациональной антибактериальной терапии невозможно без современных знаний об этиологической структуре инфекционных заболеваний и антибиотикорезистентности их возбудителей, что обуславливает необходимость выявления микробиологическими методами этиологического агента инфекции и оценки его антибиотикочувствительности [1].

Цель работы:

1. Оценка распределения этиологических агентов инфекций кровотока у пациентов с острыми лейкозами.
2. Оценка резистентности этиологических агентов инфекций кровотока к карбапенемам.
3. Сравнение предшествующей колонизации слизистых оболочек патогенными и условно-патогенными микроорганизмами и возбудителей инфекции кровотока.

Материалы и методы. Перед началом курса химиотерапии пациентам с острыми лейкозами проводилось бактериологическое исследование мазков со слизистой оболочки зева и прямой кишки с целью определения колонизации слизистых оболочек патогенными и условно-патогенными микроорганизмами. Полученный материал из зева засеивался на питательные среды: кровяной агар, шоколадный агар, среда Эндо (среда МакКонки), ЖСА, тиогликолевая среда, Сабуро агар. Условия культивирования: кровяной и шоколадный агар – при 35–37 °С, 5–10 % CO₂ в течение 24–48 часов; среда Эндо (среда МакКонки)

при 35–37 °С в аэробных условиях в течение 24 часов; ЖСА – при 35–37 °С в аэробных условиях в течение 24–48 часов; тиогликолевая среда – при 35–37 °С в анаэробных условиях в течение 7–10 дней; среда Сабуро – при 25–30 °С в аэробных условиях в течение 72 часов [2]. Идентификация микроорганизмов осуществлялась на лабораторном масс-спектрометре Microflex LT/SH (Германия, Bruker Daltonik GmbH). Идентификация микроорганизмов и определение их чувствительности к антибактериальным препаратам осуществлялись на бактериологическом анализаторе VITEK 2 Compact 60 (США, bioMerieux).

В период миелотоксического агранулоцитоза исследовались образцы венозной крови, взятые на бактериологический посев, у пациентов с фебрильной нейтропенией (от одного до трех эпизодов взятия биологического материала у одного пациента). На первом этапе определение стерильности осуществлялось на бактериологическом анализаторе BactALERT 3D 120 (США, bioMerieux). При выявлении нестерильных образцов проводился бактериологический посев на питательные среды: кровяной агар, среда Эндо (среда МакКонки), ЖСА, Сабуро агар [3]. Условия культивирования: кровяной агар – при 35–37 °С, 5–10 % CO₂, в течение 24–48 часов; среда Эндо (среда МакКонки) при 35–37 °С в аэробных условиях в течение 24 часов; ЖСА – при 35–37 °С в аэробных условиях в течение 24–48 часов; среда Сабуро – при 25–30 °С в аэробных условиях в течение 72 часов. Идентификация микроорганизмов осуществлялась на лабораторном масс-спектрометре Microflex LT/SH (Германия, Bruker Daltonik GmbH). Идентификация микроорганизмов и определение их чувствительности к антибактериальным препаратам осуществлялось на бактериологическом анализаторе VITEK 2 Compact 60 (США, bioMerieux).

Результаты и их обсуждение. В исследование включено 65 эпизодов инфекции кровотока (n = 65), верифицированных положительным бактериологическим посевом, у 43 пациентов с острыми лейкозами в период миелотоксического агранулоцитоза, проходивших лечение на базе гематологического отделения № 3 ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии» в период с 2022 по 2024 год. Из них мужчин – 26 (60,5 %), женщин – 17 (39,5 %) в возрасте от 19 до 71 года, пациентов с острым миелоидным лейкозом – 37 (86%), острым лимфобластным лейкозом) – 5 (12 %), смешанным острым лейкозом – 1 (2 %). Распределение нозологических форм острых лейкозов представлено на рисунке 1.

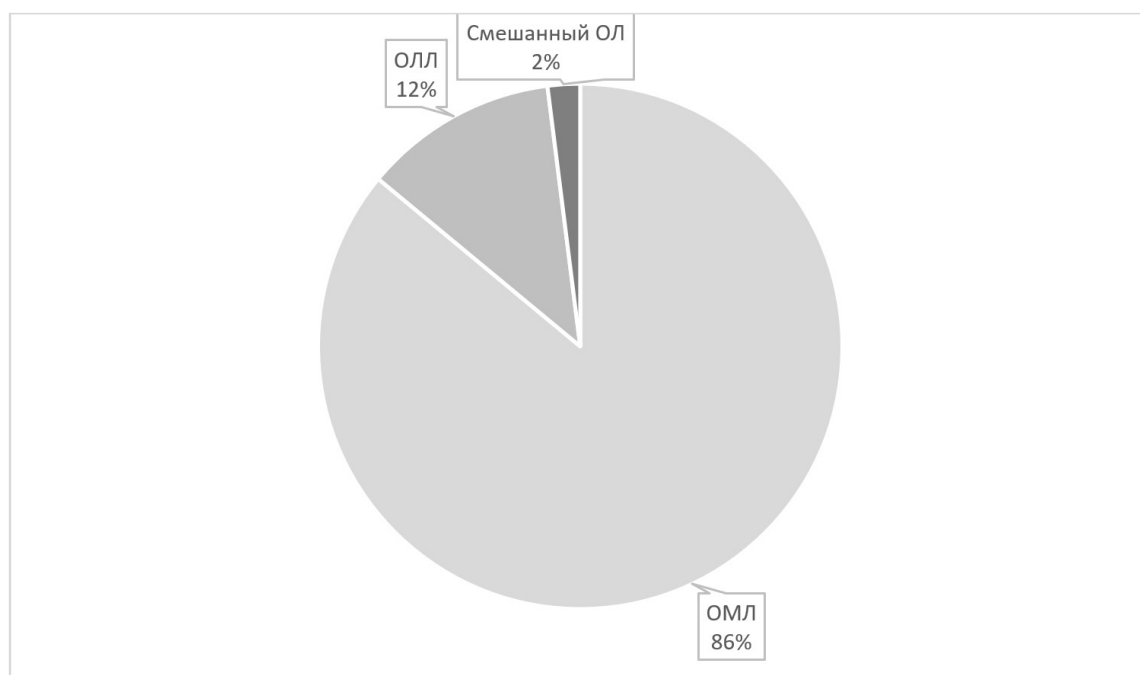


Рисунок 1 – Нозологические формы острых лейкозов у пациентов с инфекцией кровотока

В 57 случаях (87,7 %) инфекция кровотока возникла при наличии предшествующей госпитализации в стационар в течение 3 месяцев.

В 10 случаях (15,4 %) инфекция кровотока возникла у пациентов с острыми лейкозами на плюс 8 день после курса химиотерапии (рисунок 2).

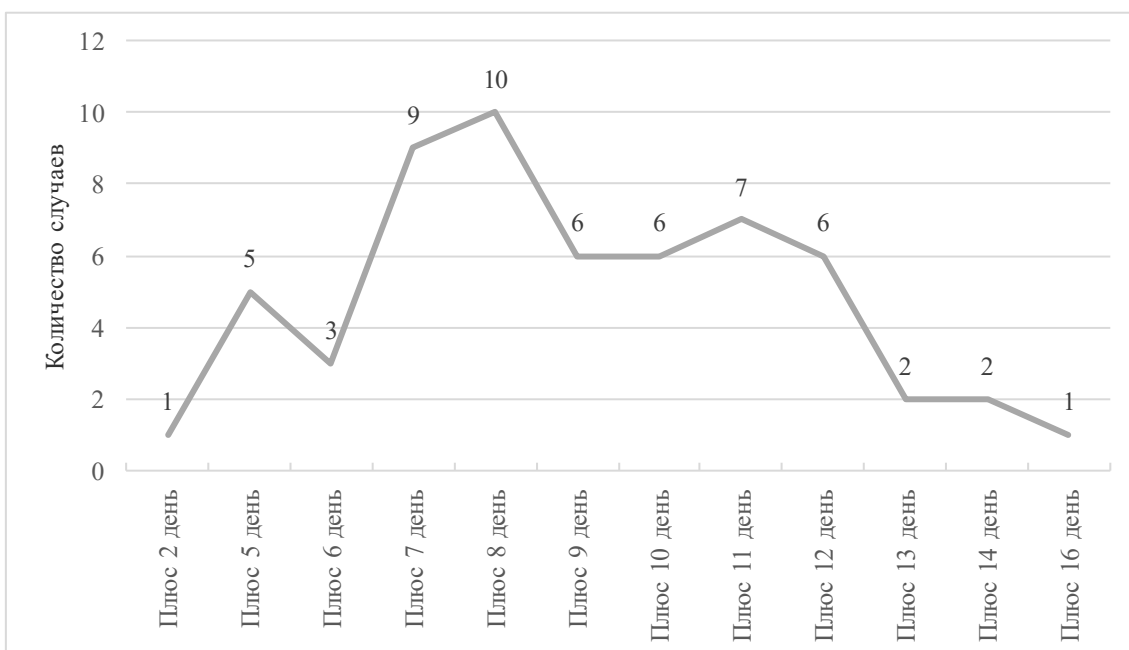


Рисунок 2 – Сроки возникновения инфекции кровотока после курса химиотерапии у пациентов с острыми лейкозами

Среди возбудителей инфекций кровотока выделены грамотрицательные микроорганизмы – 38 (58,46 %), представленные семейством *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella pneumoniae* – 20 (30,8 %), *Escherichia coli* – 16 (24,6%)), *Aeromonas hydrophila* – 1 (1,5 %), *Pseudomonas aeruginosa* – 1 (1,5 %); и грамположительные микроорганизмы – 27 (41,54 %), представленные семейством *Staphylococcaceae* (*Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hominis*, *Coagulase negative Staphylococcus*) – 25 (38,5 %) и семейством *Enterococcaceae* (*Enterococcus faecium*, *Enterococcus gallinarum*) – 2 (3,1 %) (рисунок 3).

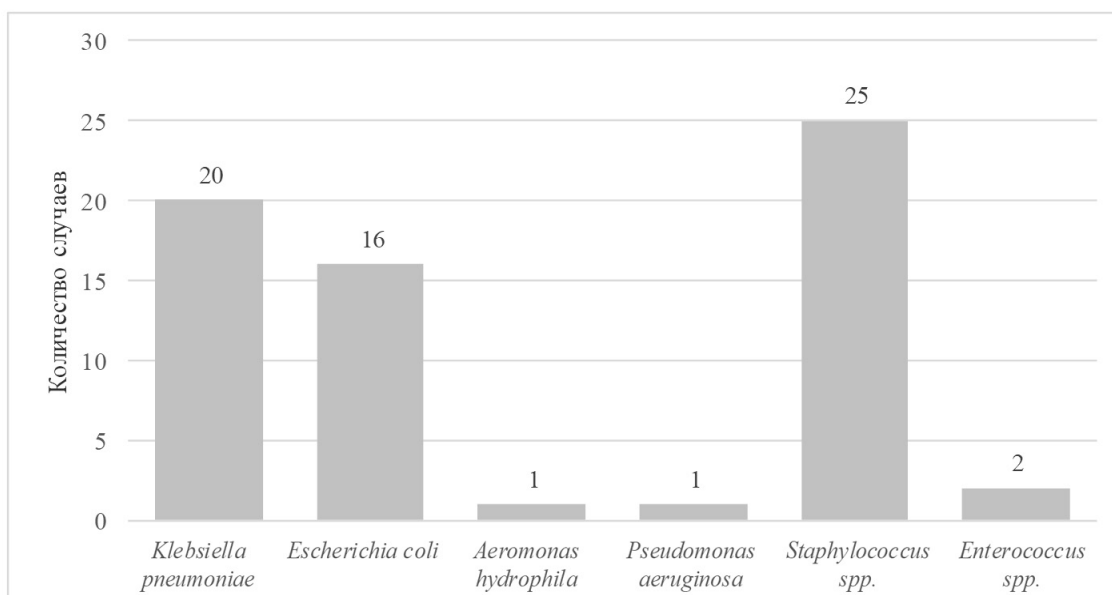


Рисунок 3 – Структура возбудителей инфекций кровотока у пациентов с острыми лейкозами

Чувствительность микроорганизмов к антибактериальным препаратам оценивалась по минимальной ингибирующей концентрации (далее – MIC) согласно контрольным точкам EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). Для *Enterobacterales* (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*) чувствительны (S) к карбапенемам штаммы с MIC ≤ 2 мг/л, резистентны (R) штаммы с MIC > 8 мг/л;

для *Staphylococcus spp.* чувствительность к карбапенемам оценивалась по чувствительности к цефокситину [4].

Среди возбудителей инфекций кровотока обнаружены резистентные к карбапенемам штаммы: *Klebsiella pneumoniae* – 17 случаев (85 %, n = 20), *Escherichia coli* – 1 случай (6,25 %, n = 16), *Staphylococcus spp.* – 15 случаев (60 %, n = 25). Доля карбапенем-резистентных штаммов наиболее часто встречающихся микроорганизмов отображена на рисунке 4.

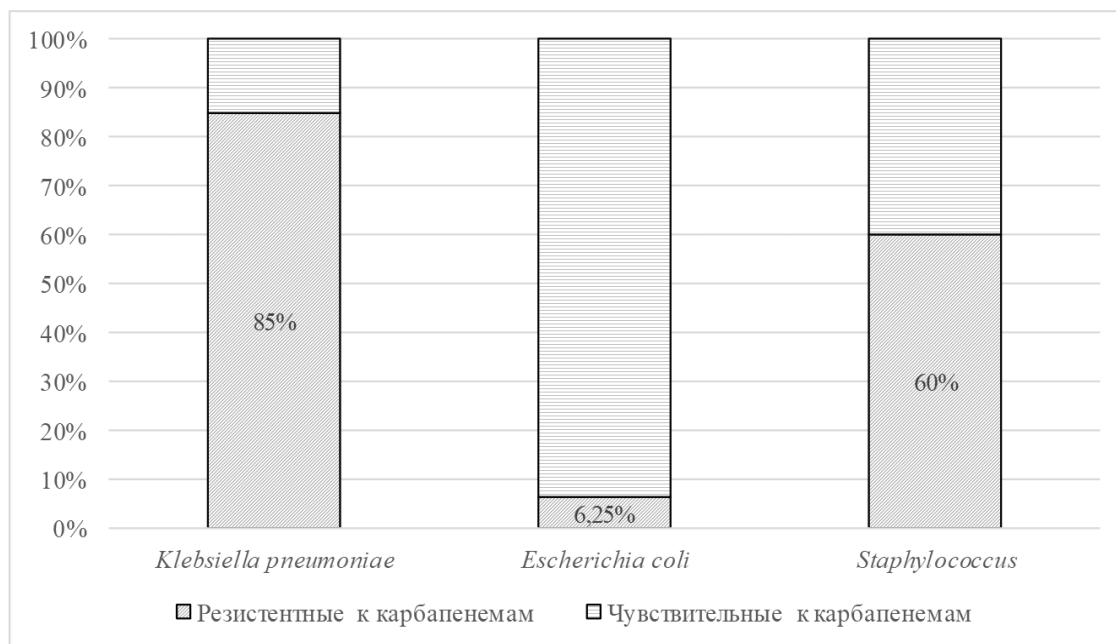


Рисунок 4 – Доля карбапенем-резистентных штаммов микроорганизмов в инфекциях кровотока у пациентов с острыми лейкозами

В исследовании оценивалась колонизация слизистых оболочек перед началом химиотерапии. Исследование материала со слизистых оболочек проводилось в 47 случаях, из них: мазки из зева и ануса – 18 случаев (38,3 %), мазки из ануса – 26 случаев (55,3 %), мазки из зева – 3 случая (6,4 %). В 6 образцах (12,8 %) высеваемая микрофлора со слизистых оболочек совпала с возбудителем инфекции кровотока. По результатам сравнения чувствительности к антибактериальным препаратам контаминантов слизистых оболочек и возбудителей инфекций кровотока чувствительность совпала в 5 случаях (83,3 %).

При подозрении на развитие инфекции кровотока пациентам назначалась эмпирическая антибактериальная терапия согласно инструкции «Метод медицинской профилактики и лечения инфекционных осложнений у взрослых пациентов с опухолевыми заболеваниями кроветворной ткани» (2019 г.). Дезэскалационный режим с применением высоких доз карбапенемов с антисинегнойной активностью в монотерапии или комбинации с колистином использовался при наличии одного из критериев:

А. Инфекция у пациента в анамнезе в течение предыдущего года или колонизация слизистых оболочек в предыдущие 3 месяца, вызванные чрезвычайно резистентными или мультирезистентными патогенами;

Б. Системное применение цефалоспоринов III–IV поколения в течение предыдущих 6 недель;

В. Лица с прогрессирующей основной гематологической болезнью.

В остальных случаях применялся эскалационный режим антибактериальной терапии, основанный на применении цефалоспоринов III–IV поколения в монотерапии или комбинации с аминогликозидами [5].

В результате проводимого лечения стабилизация состояния наступила в 59 случаях (90,8 %), у 6 пациентов (9,2 %) был зарегистрирован летальный исход, среди них в 100 % случаях инфекция кровотока была вызвана карбапенем-резистентным штаммом *Klebsiella pneumoniae*.

В исследовании, проводимом в аналогичных условиях на базе гематологического отделения № 3 ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии» в период с января 2020 по февраль 2022 года, по результатам бактериологического исследования крови

было выделено 60 штаммов *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae* (80,0 %) [6]. Устойчивость к карбапенемам была зарегистрирована у 66,7 % штаммов *Klebsiella pneumoniae*. Данные, полученные в настоящем исследовании, свидетельствуют об уменьшении доли инфекций кровотока, вызванных грамотрицательной флорой, однако наблюдается рост карбапенем-резистентности грамотрицательных микроорганизмов (85 % штаммов в исследовании за 2022–2024 годы против 66,7 % штаммов в исследовании за 2020–2022 годы).

Заключение. В результате проведенного исследования получены следующие выводы:

1. У пациентов с острыми лейкозами среди возбудителей инфекций кровотока преобладает грамотрицательная флора (58,46 %), представленная преимущественно *Klebsiella pneumoniae* (30,8 %) и *Escherichia coli* (24,6 %). Однако по результатам сравнения полученных данных с результатами исследования за период с января 2020 по февраль 2022 года наблюдается тенденция к снижению доли грамотрицательных микроорганизмов среди возбудителей инфекции кровотока.

2. Высокий уровень карбапенем-резистентности возбудителей инфекций кровотока указывает на необходимость проведения периодических эпидемиологических исследований и пересмотра ступеней эмпирической антибактериальной терапии у пациентов с острыми лейкозами.

3. Учитывая совпадение чувствительности к антибактериальным препаратам контаминантов слизистых оболочек и возбудителей инфекций кровотока в 83,3 % случаев, целесообразно назначение стартовой антибактериальной терапии при инфекции кровотока с учетом спектра антибактериальной чувствительности контаминантов слизистых оболочек.

Литература

1. Кравченко, Д. В. Гематология : учеб. / Д. В. Кравченко, И. А. Искров, И. О. Стома. – Москва : Кнорус, 2022. – 395 с. – (Специалитет).

2. Микробиологические методы исследования биологического материала : инструкция по применению № 075-0210 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 19.03.2010 / ГУ «Белорусская медицинская академия последипломного образования» [и др.] ; Н. Д. Коломиец, О. В. Тонко, Т. И. Сероокая [и др.]. – Минск, 2010. – 122 с.

3. Микробиологическая диагностика заболеваний, вызываемых энтеробактериями : инструкция по применению № 026-0309 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 08.05.2009 / ГУ «Гомельский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», ГУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» ; В. А. Нараленков, Л. П. Титов, П. В. Шитикова [и др.]. – Минск, 2009. – 103 с.

4. The European committee on antimicrobial susceptibility testing – EUCAST : [website]. – URL: <https://www.eucast.org/> (date of access: 04.11.2024).

5. Метод медицинской профилактики и лечения инфекционных осложнений у взрослых пациентов с опухолевыми заболеваниями кроветворной ткани : инструкция по применению № 028-0319 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 25.04.2019 / ГУ «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии», УО «Белорусский государственный медицинский университет» ; И. О. Стома, И. А. Карпов, И. А. Искров [и др.]. – Минск, 2019. – 17 с.

6. Большова, Н. А. Характеристика восприимчивости к антикробным препаратам возбудителей инфекций кровотока у пациентов с острыми лейкозами / Н. А. Большова, И. А. Искров, И. Ю. Лендина // Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии : Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 90-летию Рос. науч.-исслед. ин-та гематологии и трансфузиологии, г. Санкт-Петербург, 30 июня – 1 июля 2022 г. – [Опубл. в журн.] Вестник гематологии. – 2022. – Т. 18, № 2. – С. 39–40.

Staina V. A., Lendina I. Y., Vlasenkova S. V., Iskrov I. A.¹

BLOODSTREAM INFECTIONS IN PATIENTS WITH ACUTE LEUKEMIA DURING MYELOTXIC AGRANULOCYTOSIS

*State Institution «Minsk Scientific and Practical Center for Surgery, Transplantology and Hematology»,
Minsk, Belarus*

¹ *Educational Institution «Belarusian State Medical University», Minsk, Belarus*

Bloodstream infections are a major cause of morbidity and mortality among patients with acute leukemia receiving chemotherapy [1]. The study included 65 cases of bloodstream infection in 43 patients with acute leukemia during myelotoxic agranulocytosis. Among the causative agents of bloodstream infections, Gram-negative flora prevails, represented mainly by *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*,

with a high frequency of carbapenem-resistant strains (85 % of *Klebsiella pneumoniae* strains). Coincidence of susceptibility to antibacterial drugs of mucosal contaminants and causative agents of bloodstream infections was detected in 83,3 % of cases.

Keywords: acute leukemia, myelotoxic agranulocytosis, febrile neutropenia, bloodstream infections, carbapenem resistance.

Referenses

1. Kravchenko D. V., Iskov I. A., Stoma I. O. Hematology: ucheb. Moscow: KNORUS; 2022. (in Russian)
2. Kolomic N. D., Tonko O. V., Serookaya T. I. et al. Microbiological methods for studying biological material: instrukciya po primeneniyu № 075-0210. Ministry of Health of the Republic of Belarus 19.03.2010. Minsk; 2010. 122 p. (in Russian)
3. Naralencov V. A., Titov L. P., Shitikova P. V. et al. Microbiological diagnostics of diseases caused by enterobacteria: instrukciya po primeneniyu № 026-0309. Ministry of Health of the Republic of Belarus 08.05.2009. Minsk; 2009. 103 p. (in Russian)
4. The European committee on antimicrobial susceptibility testing. Available at: <https://www.eucast.org/> (accessed 04 November 2024).
5. Stoma I. O., Karpov I. A., Iskov I. A. et al. Method of medical prevention and treatment of infectious complications in adult patients with tumor diseases of hematopoietic tissue: instrukciya po primeneniyu. Ministry of Health of the Republic of Belarus 25.04.2019. Minsk; 2019. 17 p. (in Russian)
6. Bolshova N. A., Iskov I. A., Lendina I. Yu. Characteristics of susceptibility to antimicrobial drugs of pathogens causing bloodstream infections in patients with acute leukemia. In: *Current issues in hematology and transfusiology (Aktual'nye voprosy gematologii i transfuziologii): Vseros. nauch.-prakt. konf. s mezhdunar. uchastiem, posvyashch. 90-letiyu Ros. nauch.-issled. in-ta gematologii i transfuziologii*, g. Sankt-Peterburg, 30 iyunya – 1 iyulya 2022 g. In: *Bull Hematology*. 2022; 18(2): 39–40. (in Russian)

e-mail для переписки: veronika02050@gmail.com

Поступила 01.10.2024

УДК 616.12-008.331.1-039.36:616.34-008.87

Сухоцкая Е. А., Малиновская Ю. В., Семижон П. А., Черневская М. В.¹, Павлова О. С.¹

ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ РОЛЬ ДИСБИОЗА КИШЕЧНИКА В ПРОГРЕССИРОВАНИИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии
и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

¹Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр «Кардиология»,
г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Причинно-следственная связь дисбиоза кишечника и артериальной гипертензии (далее – АГ) в настоящее время активно изучается. Все больше исследований доказывают, что изменения кишечной микробиоты и ее метаболиты играют ключевую роль в возникновении и развитии АГ. Рассмотрение и сбор доказательной базы прямой связи нарушения качественного и количественного состава микробиоты кишечника и повышенного артериального давления может в дальнейшем изменить стратегию профилактики заболевания и существенно расширить возможность эффективности антигипертензивного лечения. В статье собраны литературные данные, подтверждающие значимость влияния дисбиоза кишечника, а также мнение авторов о потенциальной роли изменений кишечной микробиоты в патогенезе АГ.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, дисбиоз, микробиота кишечника, ожирение, нормофлора.

Введение. По данным ВОЗ, сердечно-сосудистые заболевания (далее – ССЗ) являются основной причиной смерти во всем мире, от которой ежегодно умирает 17,9 млн человек, при этом 85 % этих смертей произошло в результате инфаркта миокарда или инсульта [1]. Большинство этих случаев можно было бы предотвратить, обращая внимание в отношении таких факторов риска, как употребление

табака, нездоровое питание и ожирение, отсутствие физической активности и чрезмерное употребление алкоголя. Смертность от ССЗ определяется в наибольшей степени артериальной гипертензией (35 %), ожирением (23 %) и курением (13 %) [2].

АГ является одним из самых широко распространенных ССЗ и по-прежнему остается лидирующей причиной общей смертности и инвалидизации населения, с постоянно растущим количеством пациентов из года в год. Так, за последние почти 30 лет их количество в мире удвоилось – с 648 до 1278 млн [3]. Исследование 87 поведенческих, экологических, производственных и метаболических факторов риска показало, что повышение систолического артериального давления (≥ 110 – 115 мм рт. ст.) являлось единственным наиболее важным фактором риска ранней смерти во всем мире, что ежегодно приводит к 10,8 млн предотвратимых смертей, а также к бремени потерянных ежегодно 235 млн лет жизни или прожитых с инвалидностью (индекс DALY) [4]. В настоящее время широко обсуждается потенциальная роль микробиоты кишечника как одного из важных факторов в развитии и прогрессировании АГ, помимо уже изученных (активация ренин-ангиотензин-альдостероновой и симпатоадреналовой систем, эндотелиальная дисфункция, инсулинорезистентность).

Дисбиоз кишечника – это широкое понятие, включающее в себя количественное и качественное изменение пула микроорганизмов различных отделов желудочно-кишечного тракта вследствие длительного воздействия неблагоприятных факторов, в том числе различных заболеваний, с возможным развитием желудочно-кишечных расстройств. Само по себе патологическое состояние является вторичным, и врачу необходимо установить причины его развития, без лечения которых коррекция дисбиоза кишечника в полной мере невозможна. Микробиота – это термин, который используется для характеристики микробиоценоза отдельных органов и систем. Кишечная микробиота густонаселена многими миллионами представителями бактерий (условно-патогенных и комменсальных представителей), общее число видов которых более 30 000 [4].

Изменение соотношения пула комменсальных бактерий к условно-патогенным может быть следствием абсолютно разных причин: нарушение питания (нарушение приема суточной нормы белков, жиров и углеводов (существенное изменение соотношения в пользу одного из макронутриентов), чрезмерное употребление острой, соленой пищи), курс антибиотикотерапии без приема пробиотиков, стресс и другие факторы. В свою очередь, дисбиоз может влиять на развитие или усугубление множества заболеваний, одним из которых является АГ.

При АГ отмечаются следующие изменения микробиоты кишечника: снижение количества комменсальных бактерий, провоцирующее на фоне этого рост количества представителей условно-патогенной микрофлоры. Данные изменения отражаются на работе организма накоплением токсических метаболитов и подавлением положительных метаболических функций нормофлоры.

Верный и точный скрининг состояния кишечной микробиоты является таким же инструментом клинической диагностики, как и многие другие. Допустимо сравнение с лейкоцитарной формулой: сдвиг количества условно-патогенных бактерий в большую сторону в сравнении с нормобиотой на протяжении длительного промежутка времени может привести к различным заболеваниям [5].

Целью представленной в настоящей статье работы являлось изучить связь дисбиоза кишечника, ожирения и артериальной гипертензии и их взаимовлияние друг на друга на основе аналитического обзора литературы.

Материалы и методы. С целью обобщения имеющихся данных о взаимосвязи дисбиоза кишечника, ожирения и артериальной гипертензии был проведен литературный обзор отечественных и зарубежных научных публикаций. Поиск исследований проводился с помощью базы данных NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Кроме того, проводился поиск с использованием данных научной электронной библиотеки eLibrary.ru.

Результаты и их обсуждение.

Нормофлора. Нормофлора, или же нормальная микрофлора, кишечника содержит в себе огромное количество различных бактерий, в том числе условно-патогенных, низкое содержание которых не вызывает кишечных нарушений, а наоборот, является нормой, тогда как их резкое увеличение в связи с воспалительными реакциями приводит к дисбиозу и уменьшению содержания пула комменсальных «защитных» бактерий.

Главными представителями нормальной кишечной микробиоты являются *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*, уменьшение количества которых приводит соответственно к снижению выделения их метаболитов – газовых молекул. *Bifidobacterium* за счет создания кислой среды препятствуют размножению патогенной микрофлоры [6]. Кроме того, они обладают выраженным антагонизмом

в отношении патогенных микробов, улучшают процессы пищеварения, поддерживают нормальный витаминный баланс и иммунный статус, участвуют в синтезе незаменимых аминокислот. Также данные бактерии относятся к ацетату- и витамин-образующей (витамины группы В) кастенормофлоры [7]. Главными метаболитами *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*, имеющими прямое отношение к снижению риска развития АГ, являются: оксид азота – газотрансмиттер, отвечающий за эндотелий-зависимую вазодилатацию артерий, снижение агрегации тромбоцитов в сосудистом русле, модуляцию высвобождения vasoактивных медиаторов, подавление адгезии лейкоцитов к сосудистой стенке; H_2S – газовая молекула активации ангиогенеза, отвечающая за снижение силы сокращения кардиомиоцитов, обладающих кардиопротекторным действием при инфаркте миокарда; CO – молекула, обладающая антигипоксическим и антиоксидантными свойствами [8]. Содержание представителей *Lactobacillus* в пределах нормы также является важным, поскольку при избытке соли в употребляемой пище происходит уменьшение пула *Lactobacillus*, повышение артериального давления (далее – АД) и активация роста числа противовоспалительных кишечник-ориентированных Т-хелперов [9].

Ожирение. Еще одним связующим компонентом между АГ и дисбиозом является ожирение как неотъемлемое последствие несбалансированного питания. Патогенетические механизмы, влияющие на развитие АГ, при ожирении включают гиперактивацию симпатической нервной системы, стимуляцию ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, изменения продукции лептина, резистентность к инсулину, а также структурные и функциональные изменения почек [10]. При увеличении массы жировой ткани и аккумуляции жира в абдоминальных адипоцитах происходит развитие адипозопатии, что приводит к появлению значимого источника (помимо печени) образования ангиотензиногена и в дальнейшем ангиотензина II. Ангиотензин II образуется из ангиотензина I под воздействием ангиотензинпревращающего фермента (далее – АПФ), обладая при этом сосудосуживающей активностью [11]. У пациентов с ожирением также отмечено повышение активности АПФ и экспрессии рецепторов 1 типа к ангиотензину II, который стимулирует вазоконстрикцию и повышение АД, патологические процессы гипертрофии и фиброза в сердце и сосудах (рисунок 1). Данная система образования ангиотензина II – мишень для ряда антигипертензивных лекарственных препаратов [12].

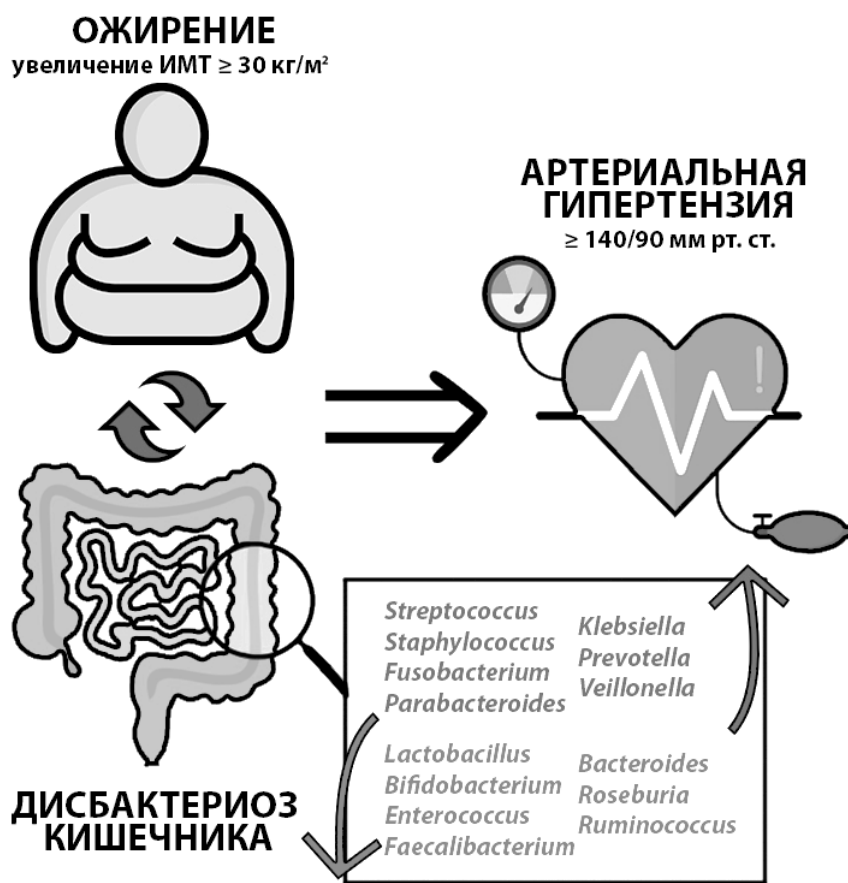


Рисунок 1 – Взаимосвязь ожирения и дисбиоза и их комплексное влияние на развитие артериальной гипертензии

Короткоцепочечные жирные кислоты (далее – КЦЖК). Микробиота кишечника может оказывать влияние на регуляцию уровня АД в результате изменения секреции вазоактивных гормонов, продукции микробных метаболитов и КЦЖК, участия в регулировании иммунного ответа и воспаления, повышенного образования окисленных липопротеинов низкой плотности, что приводит к снижению выработки синтеза оксида азота и вазоконстрикции. Метаболиты КЦЖК, вырабатываемые как грамположительными, так и грамотрицательными бактериями напрямую связаны с нормофлорой или с дисбиозом кишечника в зависимости от их количественного соотношения. КЦЖК (бутират, пропионат, ацетат) – основные продукты микробной ферментации жиров, белков и углеводов, которые вырабатываются анаэробными бактериями. Независимо от различных вариаций содержания КЦЖК при анализе кала, их нормосоотношение остается стабильным – ацетат 60 : пропионат 20 : бутират 18, и этот «золотой стандарт» нужных пропорций остается необходимым для поддержания нормофлоры кишечника [13]. При этом каждый из метаболитов КЦЖК выполняет важные функции, без которых невозможно поддержание гомеостаза микробиоты кишечника.

Так, уксусная, пропионовая и масляная кислоты участвуют в энергообеспечении, регуляции пролиферации и дифференцировке эпителия, поддержании ионного обмена и регуляции моторной активности кишечника. За поставку субстратов глюконеогенеза и препятствие адгезии патогенов к эпителию, а также антибактериальный эффект, отвечает пропионовая кислота. Метаболит масляной кислоты усиливает местный иммунитет, а вместе с ацетатом осуществляет поставку субстратов липогенеза. Представитель КЦЖК – пропионовая кислота – отвечает за выработку пропионата, предотвращающего липогенез и холестерогенез (к пропионат-образующим относятся *Bacteroides*, *Veillonella*, *Roseburia*) [14]. Масляная кислота, метаболитом которой является бутират, положительно влияет на уменьшение рисков атеросклероза и ССЗ в целом.

Faecalibacterium и *Roseburia* – бутират-продуцирующие бактерии, уменьшение содержания в микробиоте кишечника которых напрямую способствует снижению образования КЦЖК. Также к бутират-образующим бактериям относятся *Bifidobacterium*, *Fusobacterium* [15]. В свою очередь, питание с употреблением соли негативно влияет на микробиоту кишечника, что приводит к уменьшению числа представителей семейства *Lachnospiraceae* (род *Roseburia*) и меньшему содержанию бутирата [16]. Увеличение количества представителей *Streptococcus* провоцирует увеличение выработки лактата, что в свою очередь влияет на возникновение дисбиоза и системного воспаления кишечника, а как следствие и повышение АД. Поддержка целостности кишечного барьера за счет стимуляции синтеза муцина, подавление активности медиаторов воспаления, обеспечение энергией колоноцитов и недопуск избыточного поступления липополисахаридов в кровотоки – все эти функции выполняют КЦЖК [17].

Липополисахариды (далее – ЛПС). Липополисахариды, которые входят в состав наружной мембраны грамотрицательных бактерий, и необходимы в физиологических концентрациях в крови для нормального функционирования иммунной системы, в чрезмерных концентрациях приводят к «метаболической эндотоксемии». При изменении состава микробиоты происходит нарушение кишечного барьера, сопровождающееся более активной пенетрацией ЛПС грамотрицательных бактерий (эндотоксинов) в кровотоки, что приводит к активации иммунокомпетентных клеток и выработке медиаторов воспаления [18]. Увеличение количества бактерий рода *Klebsiella* и *Prevotella* вызывает воспаление, обусловленное иммунным ответом организма, в результате повышения ЛПС в организме. Снижение содержания *Bifidobacterium* также напрямую связано с увеличением количества ЛПС. Увеличение выработки эндотоксинов влияет в первую очередь на развитие системного воспалительного ответа, эндотелиальную дисфункцию, дислипидемию, гиперинсулинемию, атерогенез, которые лежат в основе прогрессирования метаболических нарушений и развития АГ [20, 21].

Пул бактерий микробиоты кишечника. В качестве биомаркера для оценки состояния кишечной микробиоты используется соотношение двух доминантных типов бактерий: *Firmicutes* (род *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Veillonella*) / *Bacteroidetes* (род *Bacteroides*) [18]. При повышении этого показателя происходит активный выброс ЛПС в кровотоки, патологическое влияние которого описано ранее. Также отмечается увеличение количества лактат-продуцирующих представителей *Streptococcus*, имеющих прямую связь с АГ и ассоциированных с различной патологией, в основе которых лежит воспаление [14] и уменьшение содержания бутират- и ацетат-продуцирующих бактерий [17].

У пациентов с АГ чаще обнаруживались представители таких родов, как *Klebsiella*, *Streptococcus* и *Parabacteroides*. Прямая корреляция между количественным содержанием бактерий, принадлежащим к родам *Bifidobacterium*, *Roseburia*, *Faecalibacterium*, и нормотонией показана во многих исследованиях [19–21]. Также в группе пациентов с АГ отмечалось увеличение количества *Streptococcus*, имеющих

прямую корреляцию с систолических и диастолических АД. Еще одна закономерность, которую можно отметить у пациентов с АГ – это снижение числа бутират-продуцирующих бактерий (*Bifidobacterium*, *Faecalibacterium*, *Roseburia*, *Fusobacterium*) и меньшая активность бутират-образующих ферментов (бутират-киназа и ацетат-КоА-трансфераза) [20]. Корреляционные связи количественного содержания различных родов бактерий и их влияния на развитие АГ отображены в таблице 1.

Таблица 1 – Корреляционные связи количества бактерий и их влияния на развитие АГ [9, 17, 20–22]

Прямая корреляция	Обратная корреляция
тип <i>Firmicutes</i> класс <i>Bacilli</i> порядок <i>Bacillales</i> семейство <i>Staphylococcaceae</i> род <i>Staphylococcus</i> +/-Ан порядок <i>Lactobacillales</i> семейство <i>Streptococcaceae</i> род <i>Streptococcus</i> +/-Ан класс <i>Negativicutes</i> порядок <i>Veillonellales</i> семейство <i>Veillonellaceae</i> род <i>Veillonella</i> -/Ан	тип <i>Firmicutes</i> класс <i>Bacilli</i> порядок <i>Lactobacillales</i> семейство <i>Lactobacillaceae</i> род <i>Lactobacillus</i> +/-Ан класс <i>Clostridia</i> порядок <i>Clostridiales</i> семейство <i>Lachnospiraceae</i> род <i>Roseburia</i> +/-Ан семейство <i>Ruminococcaceae</i> род <i>Faecalibacterium</i> +/-Ан род <i>Ruminococcus</i> +/-Ан
тип <i>Bacteroidetes</i> класс <i>Bacteroidia</i> порядок <i>Bacteroidales</i> семейство <i>Tannerellaceae</i> род <i>Parabacteroides</i> -/Ан семейство <i>Prevotellaceae</i> род <i>Prevotella</i> -/Ан	тип <i>Bacteroidetes</i> класс <i>Bacteroidia</i> порядок <i>Bacteroidales</i> семейство <i>Bacteroidaceae</i> род <i>Bacteroides</i> -/Ан
тип <i>Proteobacteria</i> класс <i>Gamma</i> proteobacteria порядок <i>Enterobacteriales</i> семейство <i>Enterobacteriaceae</i> род <i>Klebsiella</i> -/Ан	тип <i>Actinobacteria</i> класс <i>Actinobacteria</i> порядок <i>Bifidobacteriales</i> семейство <i>Bifidobacteriaceae</i> род <i>Bifidobacterium</i> +/-Ан
	тип <i>Fusobacterii</i> класс <i>Fusobacteriia</i> порядок <i>Fusobacteriales</i> семейство <i>Fusobacteriaceae</i> род <i>Fusobacterium</i> -/Ан
Примечания: 1) А – аэробы; 2) Ан – анаэробы; 3) «+» – грамположительные; 4) «-» – грамотрицательные.	

При ожирении одним из факторов, стимулирующим продукцию свободных жирных кислот, и становится причиной инсулинорезистентности при их депонировании в мышечной ткани, может являться снижение количества *Roseburia* в микробиоте кишечника. Если же избыточное количество свободных жирных кислот депонируется в печени, то нарушается метаболизм холестерина, что приводит к развитию ишемической болезни сердца. А с выработкой стеариновой кислоты, имеющей прямую корреляцию с прогрессированием АГ, связаны бактерии рода *Klebsiella* и *Prevotella*, но лишь в тех случаях, когда их количество резко возрастает в сравнении с нормой. Сама по себе стеариновая кислота в избытке способствует формированию и закреплению на стенках сосудов холестериновых бляшек и развитию атеросклероза [23].

Заключение. С каждым годом появляется все больше и больше исследований, указывающих на взаимосвязь между АГ и изменением состава микрофлоры кишечника в пользу увеличения содержания условно-патогенных бактерий. В дальнейшем воздействие на микрофлору кишечника с помощью диеты с высоким содержанием клетчатки, применение пробиотиков и пребиотиков может служить инструментом для профилактики прогрессирования заболевания, особенно при наличии у пациентов сопутствующего ожирения. Патогенетические механизмы связи стойкого повышенного АД и состава

микробиоты кишечника до конца не изучены и недостаточно раскрыт функциональный статус особенностей состава микробиоты кишечника при АГ. Однако на сегодняшний день выявлены изменения качественного и количественного состава микробиоты кишечника при АГ в сравнении с нормотензивными лицами. Среди стойких закономерностей отмечается увеличение соотношения микробных сообществ *Firmicutes* к *Bacteroidetes* и снижение числа бутират-образующих бактерий (*Bifidobacterium*, *Faecalibacterium*, *Roseburia*, *Fusobacterium*). А бактерии, продуцирующие КЦЖК, и главные представители нормофлоры (*Bifidobacterium*, *Faecalibacterium*, *Roseburia*, *Fusobacterium*, *Ruminococcus*) имеют обратную связь с уровнем АД у пациентов с АГ.

Таким образом, существует необходимость проведения дальнейших исследований по изучению взаимосвязей отдельных представителей кишечной микробиоты у пациентов с АГ, а также возможности профилактики прогрессирования АГ с помощью лечения пробиотиками. Полученные данные о связи дисбиоза и повышенного АД позволяют развивать концепцию о том, что микробиота кишечника может быть новой терапевтической мишенью в профилактике заболевания и снижении сердечно-сосудистого риска. Вопросы влияния измененной микробиоты кишечника с учетом ее метаболического и воспалительного потенциала на прогрессирование заболевания у пациентов с АГ и сопутствующим ожирением требуют дальнейшего изучения для перспективного применения микробиом-ассоциированных вмешательств наряду с антигипертензивным лечением.

Сведения о НИР. НИР «Разработать алгоритм анализа состава микробиоты кишечника у пациентов с артериальной гипертензией и ожирением» в рамках НИР «Разработать и внедрить метод медицинской профилактики прогрессирования артериальной гипертензии у пациентов с ожирением» подпрограммы «Кардиология и кардиохирургия» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг» на 2021–2025 годы, регистрационный номер 20230648.

Литература

1. Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ): информационный бюллетень ВОЗ, 11 июня 2021 г. – URL: [https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)) (дата доступа: 13.09.2024).
2. Экономический ущерб факторов риска, обусловленный их вкладом в заболеваемость и смертность от основных хронических неинфекционных заболеваний в Российской Федерации в 2016 году / А. В. Концевая, Д. К. Муканеева, А. О. Мырзаматова [и др.] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2020. – Т. 19, № 1. – С. 48–55.
3. Worldwide trends in hypertension prevalence and progress in treatment and control from 1990 to 2019: a pooled analysis of 1201 population-representative studies with 104 million participants // *Lancet*. – 2021. – Vol. 398, № 10304. – P. 957–980.
4. Микробиота кишечника при артериальной гипертензии / А. Д. Котрова, А. Н. Шишкин, Е. И. Ермоленко [и др.] // Артериальная гипертензия. – 2020. – Т. 26, № 6. – С. 620–628.
5. Динамика факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний при реализации профилактических технологий в трудовом коллективе в течение 10 лет / Н. В. Пырикова, И. В. Осипова, А. Г. Зальцман [и др.] // Профилактическая медицина. – 2020. – Т. 23, № 4. – С. 52–60.
6. Микробиом полости рта и кишечника у больных с артериальной гипертензией / В. М. Червинец, Ю. В. Червинец, Н. Е. Серова [и др.] // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. – 2019. – № 3. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/mikrobiom-polosti-rta-i-kishechnika-u-bolnyh-s-arterialnoy-gipertenziei> (date of access: 13.09.2024).
7. Role of gut microbiota-generated short-chain fatty acids in metabolic and cardiovascular health / E. S. Chambers, T. Preston, G. Frost, D. J. Morrison // *Current Nutrition Reports*. – 2018. – Vol. 7, № 4. – P. 198–206.
8. Метаболическая активность высокоантагонистических штаммов лактобацилл здорового человека / В. М. Червинец, Ю. В. Червинец, Е. А. Беляева [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2018. – Т. 95, № 4. – С. 11–17.
9. Effects of glucose and starch on lactate production by newly isolated *Streptococcus bovis* S1 from Saanen goats / L. Chen, Y. Luo, H. Wang [et al.] // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2016. – Vol. 82, № 19. – P. 5982–5989.
10. Shariq, O. A. Obesity-related hypertension: a review of pathophysiology, management, and the role of metabolic surgery / O. A. Shariq, T. J. McKenzie // *Gland Surgery*. – 2020. – Vol. 9, № 1. – P. 80–93.
11. Harrison, D. G. The Mosaic Theory revisited: common molecular mechanisms coordinating diverse organ and cellular events in hypertension / D. G. Harrison // *Journal of the American Society of Hypertension*. – 2013. – Vol. 7, № 1. – P. 68–74.

12. Hengel, F. E. Arterielle Hypertonie – Eine Übersicht für den ärztlichen Alltag / F. E. Hengel, C. Sommer, U. Wenzel // *Dtsch. Med. Wochenschr.* – 2022. – Vol. 147, № 7. – P. 414–428.
13. The gut microbiome in atherosclerotic cardiovascular disease / Z. Jie, H. Xia, S.-L. Zhong [et al.] // *Nature Communications.* – 2017. – Vol. 8. – P. 845.
14. Imbalance of gut microbiome and intestinal epithelial barrier dysfunction in patients with high blood pressure / S. Kim, R. Goel, A. Kumar [et al.] // *Clinical Science.* – 2018. – Vol. 132, № 6. – P. 701–718.
15. Lawrence, O. Plasma lactate is independently associated with high pulse pressure in hypertensive Nigerians / O. Lawrence, O. Morolake, A. Olufemi // *Journal of Hypertension.* – 2018. – Vol. 36. – P. e299.
16. Gut microbiota dysbiosis contributes to the development of hypertension / J. Li, F. Zhao, Y. Wang [et al.] // *Microbiome.* – 2017. – Vol. 5. – P. 14.
17. Ma, J. The role of gut microbiota in atherosclerosis and hypertension / J. Ma, H. Li // *Frontiers in Pharmacology.* – 2018. – Vol. 9. – P. 1082.
18. High salt diet exacerbates colitis in mice by decreasing *Lactobacillus* levels and butyrate production / P. M. Miranda, G. De Palma, V. Serkis [et al.] // *Microbiome.* – 2018. – Vol. 6, № 1. – P. 57.
19. Sex, gut microbiome, and cardiovascular disease risk / A. C. Razavi, K. S. Potts, T. N. Kelly, L. A. Bazzano // *Biology of Sex Differences.* – 2019. – Vol. 10, № 1. – P. 29.
20. Hypertension-linked pathophysiological alterations in the gut / M. M. Santisteban, Y. Qi, J. Zubcevic [et al.] // *Circulation Research.* – 2017. – Vol. 120, № 2. – P. 312–323.
21. Gut microbiota as a trigger for metabolic inflammation in obesity and type 2 diabetes / T. Scheithauer, E. Rampanelli, M. Nieuwdorp [et al.] // *Frontiers in Immunology.* – 2020. – Vol. 11. – DOI: 10.3389/fimmu.2020.571731.
22. The angiotensin AT₂ receptor: from a binding site to a novel therapeutic target / U. M. Steckelings, R. E. Widdop, E. D. Sturrock [et al.] // *Pharmacological Reviews.* – 2022. – Vol. 74, № 4. – P. 1051–1135.
23. Gut dysbiosis is linked to hypertension / T. Yang, M. M. Santisteban, V. Rodriguez [et al.] // *Hypertension.* – 2015. – Vol. 65, № 6. – P. 1331–1340.

Sukhotskaya E. A., Malinovskaya Y. V., Semizhon P. A., Chernevskaya M. V.¹, Pavlova O. S.¹

POTENTIAL ROLE OF DYSBIOSIS IN THE PROGRESSION OF ARTERIAL HYPERTENSION

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

¹State Institution «Republican Scientific and Practical Centre «Cardiology», Minsk, Belarus

The causal relationship between intestinal dysbiosis and arterial hypertension in patients is been actively studied nowadays. More and more researches keep proving that changes in the intestinal microbiota and its metabolites play a crucial role in the occurrence and progression of arterial hypertension. Consideration and collection of evidence of a direct connection between disturbances in the qualitative and quantitative composition of the intestinal microbiota and high blood pressure could be key to preventing the progression of arterial hypertension and influencing treatment options. The article has collected literature data confirming the significance of the influence of dysbiosis in the pathogenesis of hypertension, as well as the authors' opinion on the potential role of microflora and its changes in the development of hypertension.

Keywords: arterial hypertension, dysbiosis, intestinal microbiota, obesity, normal gut flora.

References

1. Cardiovascular diseases (CVD): WHO fact sheet, 11 June 2021. Available at: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)) (accessed 13 September 2024). (In Russian).
2. Kontsevaya A. V., Mukaneeva D. K., Myrzamatova A. O. et al. Economic damage of risk factors associated with morbidity and mortality from major chronic non-communicable diseases in Russia in 2016. *Cardiovasc Ther Prev.* 2020; 19(1): 48–55. (In Russian)
3. Worldwide trends in hypertension prevalence and progress in treatment and control from 1990 to 2019: a pooled analysis of 1201 population-representative studies with 104 million participants. *Lancet.* 2021; 398(10304): 957–80.
4. Kotrova A. D., Shishkin A. N., Ermolenko E. I. et al. Gut microbiota and hypertension. *Arterial'naya gipertenziya.* 2020; 26(6): 620–8. (in Russian)
5. Pyrikova N. V., Osipova I. V., Zaltsman A. G. et al. Dynamics of risk factors for cardiovascular diseases in the implementation of preventive technologies for the work staff during ten years. *Russ J Prev Med.* 2020; 23(4): 52–60. (In Russian)

6. Chervinets V. M., Chervinets Yu. V., Serova N. E. et al. Microbiom of oral cavity and intestine in patients with arterial hypertension. *Byulleten' Orenburgskogo nauchnogo tsentra URO RAN*. 2019; 3. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/mikrobiom-polosti-rta-i-kishechnika-u-bolnyh-s-arterialnoy-gipertenziiy> (accessed 13 September 2024). (In Russian)
7. Chambers E. S., Preston T., Frost G., Morrison. Role of gut microbiota-generated short-chain fatty acids in metabolic and cardiovascular health. *Curr Nutr Rep*. 2018; 7(4): 198–206.
8. Chervinets V. M., Chervinets Yu. V., Belyaeva E. A. et al. Metabolic activity of high-antagonistic strains of lactobacilli isolated from healthy people. *J Microbiol, Epidemiol Immunobiol*. 2018; 95(4): 11–7. (in Russian)
9. Chen L., Luo Y., Wang H. et al. Effects of glucose and starch on lactate production by newly isolated streptococcus bovis S1 from saanen goats. *Appl Environ Microbiol*. 2016; 82(19): 5982–9.
10. Shariq O. A., McKenzie T. J. Obesity-related hypertension: a review of pathophysiology, management, and the role of metabolic surgery. *Gland Surg*. 2020; 9(1): 80–93.
11. Harrison D. G. The Mosaic Theory revisited: common molecular mechanisms coordinating diverse organ and cellular events in hypertension. *J Am Soc Hypertens*. 2013; 7(1): 68–74.
12. Hengel F. E., Sommer C., Wenzel U. Arterielle Hypertonie – Eine Übersicht für den ärztlichen Alltag. *Dtsch. Med Wochenschr*. 2022; 147(7): 414–28. (In German)
13. Jie Z., Xia H., Zhong S. L. et al. The gut microbiome in atherosclerotic cardiovascular disease. *Nat Commun*. 2017; 8: 845.
14. Kim S., Goel R., Kumar A. et al. Imbalance of gut microbiome and intestinal epithelial barrier dysfunction in patients with high blood pressure. *Clin. Sci*. 2018; 132(6): 701–18.
15. Lawrence O., Morolake O., Olufemi A. Plasma lactate is independently associated with high pulse pressure in hypertensive. *J Hypertens*. 2018; 36: e299.
16. Li J., Zhao F., Wang Y. et al. Gut microbiota dysbiosis contributes to the development of hypertension. *Microbiome*. 2017; 5: 14.
17. Ma J., Li H. The role of gut microbiota in atherosclerosis and hypertension. *Front. Pharmacol*. 2018; 9: 1082.
18. Miranda P. M., De Palma G., Serkis V. et al. High salt diet exacerbates colitis in mice by decreasing Lactobacillus levels and butyrate production. *Microbiome*. 2018; 6(1): 57.
19. Razavi A. C., Potts K. S., Kelly T. N., Bazzano L. A. Sex, gut microbiome, and cardiovascular disease risk. *Biol. Sex Differ*. 2019; 10(1): 29.
20. Santisteban M. M., Qi Y., Zubcevic J. et al. Hypertension-linked pathophysiological alterations in the gut. *Circ. Res*. 2017; 120(2): 312–23.
21. Scheithauer T., Rampanelli E., Nieuwdorp M., et al. Gut microbiota as a trigger for metabolic inflammation in obesity and type 2 diabetes. *Front. Immunol*. 2020; 11. DOI: 10.3389/fimmu.2020.571731.
22. Steckelings U. M., Widdop R. E., Sturrock E. D. et al. The angiotensin AT2 receptor: from a binding site to a novel therapeutic target. *Pharmacol. Rev*. 2022; 74(4): 1051–135.
23. Yang T., Santisteban M. M., Rodriguez V. et al. Gut dysbiosis is linked to hypertension. *Hypertension*. 2015; 65(6): 1331–40.

e-mail для переписки: elissuchozkaja5@gmail.com

Поступила 23.09. 2024

Янович О. О., Титов Л. П.

ПРОФИЛИ УСТОЙЧИВОСТИ МНОЖЕСТВЕННО-РЕЗИСТЕНТНЫХ *ACINETOBACTER BAUMANNII*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ ОТДЕЛЕНИЙ ХИРУРГИИ И РЕАНИМАЦИИ

Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии
и общественного здоровья», г. Минск, Республика Беларусь

Аннотация. Целью работы было оценить распространенность и сочетание генов бета-лактамаз среди фенотипически множественно-резистентных штаммов *Acinetobacter baumannii*, выделенных от пациентов отделений хирургии и реанимации регионов Республики Беларусь. Методом ПЦР было проведено определение наличия генов бета-лактамаз молекулярных классов А, В, D у 109 штаммов фенотипически множественно-резистентных *A. baumannii*. Основным механизмом, наделяющим исследованные штаммы *A. baumannii* устойчивостью к карбапенемам, является карбапенемаза OXA-24/40 (87,4 %). Распространенность гена blaVIM среди штаммов *A. baumannii*, полученных из отделений различного профиля составила 20,4 %. Установлено, что все штаммы *A. baumannii*, несущие ген blaVIM также имеют ген blaOXA24/40. В ходе исследования среди *A. baumannii* подтверждено наличие генов бета-лактамазы расширенного спектра у 35,9 % штаммов.

Ключевые слова: бета-лактамазы, *Acinetobacter baumannii*, множественная резистентность.

Введение. Распространение устойчивости к противомикробным препаратам является одной из глобальных проблем здравоохранения. По прогнозам к 2050 г. смертность от инфекций, вызванных резистентными микроорганизмами, может достигнуть показателей 10 млн в год, а потери мирового валового внутреннего продукта составят около 100 трлн долларов США [1].

Acinetobacter baumannii относится к группе бактерий ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter spp.*), являющихся основной причиной инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи [2].

A. baumannii вызывает различные заболевания, включая пневмонию, инфекции мочевыводящих путей, кровотока, кожи и мягких тканей и нозокомиальный менингит [3, 4].

Способность *A. baumannii* сочетать разнообразные детерминанты резистентности к антибактериальным препаратам и образовывать биопленки способствует его длительному сохранению в больной среде [5].

Устойчивый к карбапенемам *A. baumannii* был признан ВОЗ в 2018 г. приоритетом номер один в области исследований и разработок антибиотиков [6].

Исходя из вышесказанного *A. baumannii*, несомненно, является одним из наиболее успешных возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Распространение множественно-резистентных штаммов *A. baumannii* приводит к ограничению схем лечения инфекций, вызванных данным возбудителем. Для решения данной проблемы важное значение имеет изучение механизмов устойчивости патогена к антибиотикам.

Цель работы – оценить распространенность и сочетание генов бета-лактамаз среди фенотипически множественно-резистентных штаммов *A. baumannii*, выделенных от пациентов отделений хирургии и реанимации регионов Республики Беларусь.

Материалы и методы. Материалом для молекулярно-генетического анализа являлись 109 штаммов фенотипически множественно-резистентных *A. baumannii*, выделенных от взрослых пациентов хирургических отделений и отделений реанимации различных областей Республики Беларусь в 2019–2020 гг.

Первичный посев полученных культур осуществляли из транспортной среды на мясо-пептонный агар. Идентификацию микроорганизмов проводили с помощью бактериологического автоматизированного анализатора «VITEK-2 Compact». Выделение ДНК проводили из суточной культуры с помощью набора «РИБО-преп» («АмплиСенс», Россия), согласно инструкции производителя. Заключительная идентификация полученных чистых культур микроорганизмов проводилась методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени по наличию гена *basC*, кодирующего специфический для *A. baumannii* сидерафор ацинетобактин.

Тест на чувствительность к антибиотикам для всех изолятов *A. baumannii* был проведен с использованием диско-диффузионного метода. Для тестирования чувствительности ацинетобактер были использованы наборы антибиотиков, рекомендованные в практическом руководстве по эпиднадзору за устойчивостью к противомикробным препаратам в Центральной Азии и Европе (CAESAR, Central Asian and European Surveillance of Antimicrobial Resistance) [7]. Чувствительность к антибактериальным препаратам определялась к меропенему (10 мкг), ципрофлоксацину (5 мкг), амикацину (30 мкг), гентамицину (10 мкг) (Россия). Результаты интерпретировали в соответствии с критериями Европейского комитета по определению чувствительности к антибиотикам (EUCAST, 2022).

Для выявления распространенности бета-лактамаз были исследованы следующие гены: сериновых карбапенемаз (OXA-23, OXA-24/40, OXA-51, OXA-58, OXA-48), металло-бета-лактамаз (NDM и IMP, VIM), бета-лактамаз расширенного спектра действия (CTX-M, SHV, TEM, VEB, GES).

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью компьютерных программ Statistica 8.0 и Microsoft Excel.

Результаты и их обсуждение. В ходе выполнения работы было получено 109 штаммов, выделенных от взрослых пациентов хирургических отделений и отделений реанимации из различных областей Республики Беларусь.

По данным диско-диффузионного метода *A. baumannii* показали высокий уровень устойчивости к большинству протестированных антибиотиков: 99,1 % штаммов *A. baumannii* были устойчивыми к имипенему, а 97,1 % штаммов были устойчивы к меропенему. Устойчивость к гентамицину и амикацину составила 89 % и 93,6 % соответственно. К фторхинолонам (ципрофлоксацину и левофлоксацину) резистентность также высокая – 100 % и 99,1 % соответственно.

Все штаммы *A. baumannii* были протестированы на наличие карбапенемаз класса D – OXA-23, OXA-24/40, OXA-51, OXA-58, OXA-48. Среди исследованных штаммов *A. baumannii* не было обнаружено ни одного носителя гена blaOXA-58, а наибольшую распространенность (99,0 %) имела видоспецифичная карбапенемаза blaOXA-51 (рисунок 1).

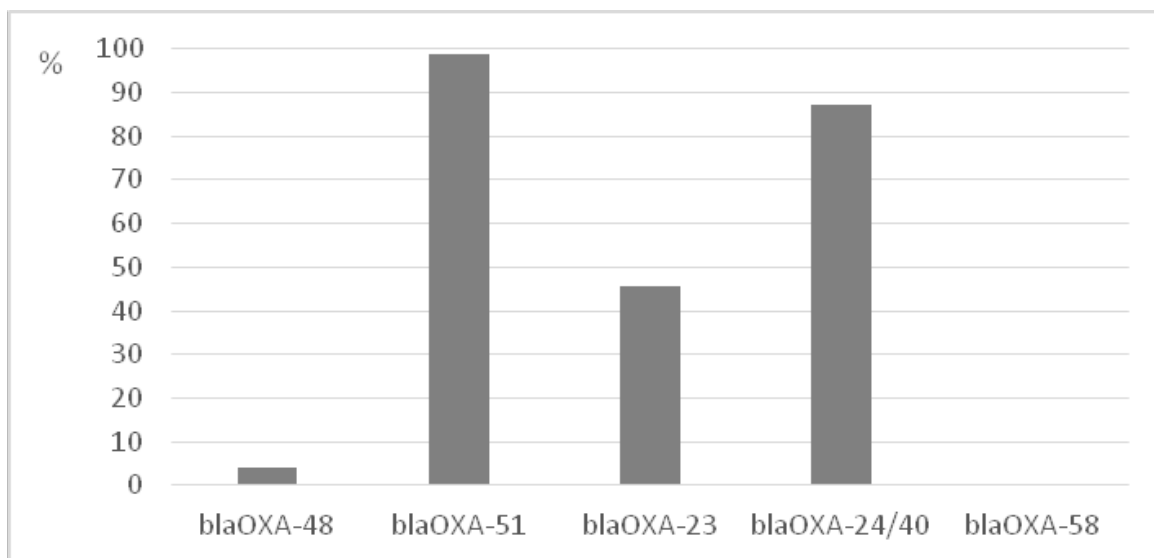


Рисунок 1 – Частота распределения генов карбапенемаз в исследуемых штаммах *Acinetobacter baumannii*

Также с высокой частотой выявлен ген blaOXA-24/40 – 87,4 %. Ген blaOXA-23 определялся у 45,6 % штаммов. Комбинация групп генов blaOXA-24/blaOXA-23 определена в 39,8 % штаммов.

Ген blaOXA-48, широко распространенный среди *K. pneumoniae* и других энтерококков, играет важную роль в образовании биопленок и устойчивости к карбапенемам. В настоящее время стали появляться данные о выявлении данного гена в штаммах ацинетобактер. В нашем исследовании ген blaOXA48 был выявлен в четырех штаммах *A. baumannii*, что составляет 3,9 %.

Общая распространенность гена blaVIM среди штаммов *A. baumannii*, полученных из отделений различного профиля составила 20,4 %. Установлено, что все штаммы *A. baumannii*, несущие ген blaVIM также имеют гены другого молекулярного класса – сериновых карбапенемаз OXA-51 и OXA-24/40.

Среди исследованных штаммов *A. baumannii* не обнаружено ни одного носителя генов металло-бета-лактамаз blaNDM и blaIMP.

В ходе исследования у 35,9 % штаммов *A. baumannii* были выявлены гены бета-лактамазы расширенного спектра (далее – БЛРС). Установлено, что наиболее распространенным геном являлся blaCTX-M, встречающийся среди *A. baumannii* с частотой 26,2 %, причем в трех штаммах он комбинировался с другими генами БЛРС – один с TEM (0,8 %) и два с SHV (1,9 %). Ни один штамм не обладал комбинацией из трех изученных генов БЛРС.

Также у 6,8 % изученных штаммов *A. baumannii* был выявлен ген blaVEB, причем этот ген присутствовал в качестве единственной детерминанты резистентности. Используемый нами ПЦР-метод не выявил ни одного штамма *A. baumannii*, обладающего геном blaGES.

A. baumannii стал одним из наиболее успешных патогенов благодаря своей быстрой способности приобретать детерминанты устойчивости к противомикробным препаратам.

По данным проведенного метаанализа, распространенность штаммов *A. baumannii* с множественной лекарственной устойчивостью, вызывающих внутрибольничные инфекции, в мире составила 79,9 %. Самые высокие показатели наблюдались в Центральной и Латинской Америке (100 %), в Восточной Азии данное значение составило 64,6% [8]. Результаты нашего тестирования резистентности *A. baumannii*, выделенных от пациентов с гнойно-воспалительными заболеваниями, свидетельствуют о высоком уровне их резистентности к большинству классов антибиотиков.

A. baumannii обладает как природными, так и приобретенными механизмами резистентности. Эти механизмы включают ферментативную инактивацию антибиотика, изменение проницаемости мембран и работы эффлюксных насосов, модификацию молекул-мишеней [9].

Основным механизмом устойчивости к антибиотикам *A. baumannii* является наличие бета-лактамаз.

На основании гомологии последовательностей бета-лактамазы группируются в молекулярные классы А, В, С и D [10]. У *A. baumannii* идентифицированы все четыре класса бета-лактамаз. Наиболее значимым из известных механизмов резистентности *A. baumannii* является продукция приобретенных карбапенем-гидролизующих бета-лактамаз класса D: OXA-23-подобных, OXA-40- и OXA-58-подобных карбапенемаз.

Первым ферментом OXA с карбапенемазной активностью, идентифицированным у *A. baumannii*, был OXA-23 [11]. Этот фермент дал название первой группе ферментов OXA, способных придавать устойчивость к карбапенемам. Ген blaOXA-23 распространен по всему миру и частота его выявления очень высока [12].

Бета-лактамазы, принадлежащие к группе OXA-24/40, встречаются несколько реже, чем OXA-23, но они также распространены во всем мире, включая Европу [13], Азию [14] и Южную Америку [15].

OXA-51 первоначально была обнаружена в клиническом изоляте *A. baumannii* из Аргентины [16]. Исследования фермента OXA-51 показали, что ген специфичен для хромосомы *A. baumannii* [17].

По данным нашего исследования, ген blaOXA-24/40 оказался наиболее распространенным геном карбапенемаз класса D – 87,4 %.

В отличие от сериновых бета-лактамаз, бета-лактамазы класса В представляют собой металло-бета-лактамазы (далее – МБЛ), которые содержат в своем активном центре атом цинка. Благодаря широкому спектру субстратов МБЛ вызывают гидролиз практически всех бета-лактаменных антибиотиков, включая карбапенемы.

VIM – это семейство интегрон-ассоциированных металло-бета-лактамаз. Гены blaVIM обычно встроены в интегроны класса 1, которые могут быть включены либо в плазмиды, либо в хромосомы. Ферменты VIM сегодня широко распространены на всех континентах и являются наиболее распространенными МБЛ [18].

Наличие МБЛ blaNDM придает устойчивость ко всем классам бета-лактаменных антибиотиков, за исключением азтреонама. В отличие от других МБЛ, NDM способен связываться с внешней мембраной бактерий [19].

Наше исследование показало, что распространенность гена blaVIM среди штаммов *A. baumannii*, полученных из отделений различного профиля, составила 20,4 %. Установлено, что все штаммы *A. baumannii*, несущие ген blaVIM, также имеют ген blaOXA24/40. Ни один из штаммов *A. baumannii* не оказался положительным по наличию генов металло-бета-лактамаз blaNDM и blaIMP.

По литературным данным, у *A. baumannii* выявлен ряд бета-лактамаз расширенного спектра действия – TEM, SHV, CTX-M, VEB-1, GES [20].

В ходе исследования среди *A. baumannii* подтверждено наличие генов БЛРС у 35,9 % штаммов. Установлено, что наиболее распространенным геном являлся blaCTX-M (26,2 %). Также у 6,8 % изученных штаммов *A. baumannii* был выявлен ген blaVEB, причем этот ген присутствовал в качестве единственной детерминанты резистентности.

Таким образом, анализ частоты выявления генов бета-лактамаз различных классов и их комбинаций показал, что среди штаммов *A. baumannii* с высокой частотой встречаются сериновые карбапенемазы и их сочетание с генами бета-лактамаз других классов.

Множественно-резистентные штаммы *A. baumannii* являются серьезной клинической проблемой, и идентификация механизмов резистентности этого патогена позволит пролить свет на патогенетические механизмы и предложить новые терапевтические мишени и препараты.

Сведения о НИР. НИР «Разработать и внедрить алгоритм определения генов резистентности клинически значимых грамотрицательных бактерий и установить частоту выявления генов бета-лактамаз различных молекулярных классов» подпрограммы «Геномные технологии и инфекционная безопасность» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг», 2021–2025 годы, регистрационный номер 20192834.

Литература

1. De Kraker, M. E. Will 10 million people die a year due to antimicrobial resistance by 2050? / M. E. de Kraker, A. J. Stewardson, S. Harbarth // PLoS Medicine. – 2016. – Vol. 13, № 11. – DOI: 10.1371/journal.pmed.1002184.
2. Santajit, S. Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens / S. Santajit, N. Indrawattana // BioMed Research International. – 2016. – Vol. 2016. – DOI: 10.1155/2016/2475067.
3. Dijkshoorn, L. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* / L. Dijkshoorn, A. Nemes, H. Seifert // Nature Reviews. Microbiology. – 2007. – Vol. 5, № 12. – P. 939–951.
4. Тренды резистентности к антибиотикам возбудителей инвазивных бактериальных заболеваний: микробиологический мониторинг 2012–2017 гг. / Л. П. Титов, В. А. Горбунов, Хархаль А. Н. [и др.] // Здравоохранение. – 2019. – № 7. – С. 5–16.
5. Willyard, C. The drug-resistant bacteria that pose the greatest health threats / C. Willyard // Nature. – 2017. – Vol. 543. – P. 15.
6. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis / E. Tacconelli, E. Carrara, A. Savoldi [et al.] // The Lancet. Infectious Diseases. – 2018. – Vol. 18, № 3. – P. 318–327.
7. Эпиднадзор за устойчивостью к противомикробным препаратам в Центральной Азии и Европе: ежегодный доклад 2019 / Всемир. орг. здравоохранения. – Копенгаген : ВОЗ, 2020. – 158 с.
8. The global prevalence of multidrug-resistance among *Acinetobacter baumannii* causing hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia and its associated mortality: a systematic review and meta-analysis / S. Mohd Sazly Lim, A. Zainal Abidin, S. M. Liew [et al.] // The Journal of Infection. – 2019. – Vol. 79, № 6. – P. 593–600.
9. *Acinetobacter baumannii* antibiotic resistance mechanisms / I. Kyriakidi, E. Vasileiou, Z. D. Pana, A. Tragiannidis // Pathogens. – 2021. – Vol. 10, № 3. – DOI: 10.3390/pathogens10030373.
10. Bush, K. Epidemiology of β -lactamase-producing pathogens / K. Bush, P. A. Bradford // Clinical Microbiology Reviews. – 2020. – Vol. 33, № 2. – DOI: 10.1128/CMR.00047-19.
11. Sequence analysis of ARI-1, a novel OXA beta-lactamase, responsible for imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii* 6B92 / H. M. Donald, W. Scaife, S. G. Amyes, H. K. Young // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2000. – Vol. 44, № 1. – P. 196–199.
12. Ramirez, M. S. Carbapenemases: transforming *Acinetobacter baumannii* into a yet more dangerous menace / M. S. Ramirez, R. A. Bonomo, M. E. Tolmasey // Biomolecules. – 2020 – Vol. 10, № 5. – DOI: 10.3390/biom10050720.
13. Rieber, H. Molecular investigation of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. from hospitals in North Rhine-Westphalia, Germany / H. Rieber, A. Frontzek, Y. Pfeifer // Microbial Drug Resistance. – 2017. – Vol. 23, № 1. – P. 25–31.
14. Kamolvit, W. Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance of *Acinetobacter* spp. in Asia and Oceania / W. Kamolvit, H. E. Sidjabat, D. L. Paterson // Microbial Drug Resistance. – 2015. – Vol. 21, № 4. – P. 424–434.
15. Outbreak of bla OXA-72 – producing *Acinetobacter baumannii* in South America / T. Nunez Quezada, C. Hernan Rodríguez, G. Castro Cañarte // Journal of Chemotherapy. – 2017. – Vol. 29, № 5. – P. 321–324.

16. Brown, S. Characterisation of OXA-51, a novel class D carbapenemase found in genetically unrelated clinical strains of *Acinetobacter baumannii* from Argentina / S. Brown, H. K. Young, S. G. Amyes // *Clinical Microbiology and Infection*. – 2005. – Vol. 11, № 1. – P. 15–23.

17. Vijayakumar, S. Accurate identification of clinically important *Acinetobacter* spp.: an update / S. Vijayakumar, I. Biswas, B. Veeraraghavan // *Future Science OA*. – 2019. – Vol. 5, № 6. – DOI: 10.2144/fsoa-2018-0127.

18. Van Duin, D. The global epidemiology of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* / D. Van Duin, Y. Doi // *Virulence*. – 2017. – Vol. 8, № 4. – P. 460–469.

19. BlaNDM-1 is a chimera likely constructed in *Acinetobacter baumannii* / M. A. Toleman, J. Spencer, L. Jones, T. R. Walsh // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2012. – Vol. 56, № 5. – P. 2773–2776.

20. Antibiotic resistance profiles, molecular mechanisms and innovative treatment strategies of *Acinetobacter baumannii* / C. O. Vrancian, I. Gheorghe, I. Barbu Czobor, M. Carmen Chifriuc // *Microorganisms*. – 2020. – Vol. 8, № 6. – DOI: 10.3390/microorganisms8060935.

Yanovich O. O., Titov L. P.

**RESISTANCE PROFILES OF MULTIDRUG-RESISTANT ACINETOBACTER BAUMANNII
ISOLATED FROM PATIENTS IN SURGICAL
AND INTENSIVE CARE UNITS**

State institution «Republican Center of Hygiene, Epidemiology and Public Health», Minsk, Belarus

Aim of the research was to study the frequency of beta-lactamases in phenotypically multi-drug resistant *A. baumannii* obtained from patients of surgery and intensive care units in Belarus. Beta-lactamase genes from A, B and D molecular classes were detected by PCR in 109 phenotypically multi-drug resistant *A. baumannii*. The common cause of carbapenem resistance was the presence of carbapenemase gene blaOXA-24/40 identified in 87.4 % isolates. The prevalence of the blaVIM gene among *A. baumannii* isolates was 20.4 %. All *A. baumannii* strains carrying the blaVIM gene also have the blaOXA24/40 gene. The study confirmed the presence of ESBL genes among *A. baumannii* in 35.9 % of strains.

Keywords: beta-lactamases, *Acinetobacter baumannii*, multi-drug resistance.

References

1. De Kraker M. E., Stewardson A. J., Harbarth S. Will 10 million people die a year due to antimicrobial resistance by 2050? *PLoS Med*. 2016; 13(11). DOI: 10.1371/journal.pmed.1002184.

2. Santajit S., Indrawattana N. Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. *Biomed Res Int*. 2016; 2016. DOI: 10.1155/2016/2475067.

3. Dijkshoorn L., Nemec A., Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nat Rev Microbiol*. 2007; 5(12): 939–51.

4. Titov L. P., Gorbunov V. A., Kharkhal A. N. et al. Trends in invasive bacterial diseases pathogens resistance to antibiotics: microbiologic monitoring, 2012–2017. *Healthcare*. 2019; 7: 5–16. (in Russian)

5. Willyard C. The drug-resistant bacteria that pose the greatest health threats. *Nature*. 2017; 543: 15.

6. Tacconelli E., Carrara E., Savoldi A. et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect Dis*. 2018; 18(3): 318–27.

7. Central Asian and European Surveillance of Antimicrobial Resistance: CAESAR manual: 2019. Copenhagen: WHO, 2020.

8. Mohd Sazly Lim S., Zainal Abidin A., Liew S. M. et al. The global prevalence of multidrug-resistance among *Acinetobacter baumannii* causing hospital-acquired and ventilator-associated pneumonia and its associated mortality: a systematic review and meta-analysis. *J Infect*. 2019; 79(6): 593–600.

9. Kyriakidis I., Vasileiou E., Pana Z. D., Tragiannidis A. *Acinetobacter baumannii* antibiotic resistance mechanisms. *Pathogens*. 2021; 10(3). DOI: 10.3390/pathogens10030373.

10. Bush K., Bradford P. A. Epidemiology of β -lactamase-producing pathogens. *Clin Microbiol Rev*. 2020; 33(2). DOI: 10.1128/CMR.00047-19.

11. Donald H. M., Scaife W., Amyes S. G., Young H. K. Sequence analysis of ARI-1, a novel OXA beta-lactamase, responsible for imipenem resistance in *Acinetobacter baumannii* 6B92. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000; 44(1): 196–9.

12. Ramirez M. S., Bonomo R. A., Tolmasky M. E. Carbapenemases: transforming *Acinetobacter baumannii* into a yet more dangerous menace. *Biomolecules*. 2020; 10(5). DOI: 10.3390/biom10050720.

13. Rieber H., Frontzek A., Pfeifer Y. Molecular investigation of carbapenem-resistant *Acinetobacter* spp. from hospitals in North Rhine-Westphalia, Germany. *Microb Drug Resist.* 2017; 23(1): 25–31.
14. Kamolvit W., Sidjabat H. E., Paterson D. L. Molecular epidemiology and mechanisms of carbapenem resistance of *Acinetobacter* spp. in Asia and Oceania. *Microb Drug Resist.* 2015; 21(4): 424–34.
15. Nunez Quezada T. Outbreak of bla OXA-72 – producing *Acinetobacter baumannii* in South America. *J Chemother.* 2016; 13: 321–4.
16. Brown S., Young H. K., Amyes S. G. Characterisation of OXA-51, a novel class D carbapenemase found in genetically unrelated clinical strains of *Acinetobacter baumannii* from Argentina. *Clin Microbiol Infect.* 2005; 11(1): 15–23.
17. Vijayakumar S., Biswas I., Veeraraghavan B. Accurate identification of clinically important *Acinetobacter* spp.: an update. *Future Sci OA.* 2019; 5(6). DOI: 10.2144/fsoa-2018-0127.
18. Van Duin D. The global epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Virulence.* 2017; 8: 460–9.
19. Toleman M. A., Spencer J., Jones L., Walsh T. R. blaNDM-1 is a chimera likely constructed in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012; 56(5): 2773–6.
20. Vrancianu C. O., Gheorghe I., Czobor I. B., Chifriuc M. C. Antibiotic resistance profiles, molecular mechanisms and innovative treatment strategies of *Acinetobacter baumannii*. *Microorganisms.* 2020; 8(6). DOI: 10.3390/microorganisms8060935.

e-mail для переписки: oyanov74@mail.ru

Поступила 30.09.2024

РЕЗОЛЮЦИЯ МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ «ЗДОРОВЬЕ И ОКРУЖАЮЩАЯ СРЕДА»,

5–6 декабря 2024 г.

Международная научно-практическая конференция «Здоровье и окружающая среда» состоялась 5–6 декабря 2024 г. в соответствии с приказом Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 20 ноября 2024 г. № 1519. В работе конференции приняли участие более 800 специалистов из Республики Беларусь, Российской Федерации, Республики Узбекистан, Азербайджанской Республики, Кыргызской Республики. Проведены 9 секционных заседаний, конкурс работ молодых ученых и круглый стол «Регулирование особо опасных пестицидов. Безопасность химической продукции. Токсикология» (при поддержке ПРООН в Республике Беларусь).

Обсужденные на конференции вопросы соответствуют основным направлениям деятельности Министерства здравоохранения Республики Беларусь в области гигиены, профилактической токсикологии, эпидемиологии, микробиологии и вирусологии. Заслушаны и обсуждены более 300 докладов на пленарных и секционных заседаниях, постерных сессиях, которые отражали совокупность современных научных исследований и их результатов.

Основные направления работы конференции: факторы среды обитания человека и анализ рисков здоровью; радиационная безопасность; медицина труда и профессиональная патология; гигиена детей и подростков; гигиена питания; профилактическая, экологическая и промышленная токсикология; регулирование особо опасных пестицидов, безопасность химической продукции; методы аналитического лабораторного контроля; профилактическая и персонифицированная медицина: современные тенденции профилактики, диагностики и лечения хронических неинфекционных заболеваний (ХНИЗ); оптимизация эпидемиологического слежения за инфекционными и паразитарными болезнями; разработка современных методов и алгоритмов идентификации патогенных микроорганизмов с использованием молекулярно-биологических методов; устойчивость к противомикробным препаратам, пути преодоления и перспективы лечения; иммунные аспекты инфекционных болезней, клеточные биотехнологии.

В соответствии с положениями резолюций международной научно-практической конференции «Здоровье и окружающая среда» (23–24 ноября 2023 г.) и республиканской научно-практической конференции с международным участием «Новые концепции и методы в микробиологии, вирусологии и иммунологии» (30–31 мая 2024 г.), посвященной 100-летию государственного учреждения «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии», выполнялись научные исследования по следующим направлениям.

1. Совершенствование гигиенических критериев оценки воздействия факторов среды обитания человека на основании комплекса экспериментальных, натурных и эпидемиологических исследований и анализа риска с целью профилактики неинфекционных заболеваний, а также обеспечения социально-гигиенического мониторинга:

изучение акустической обстановки на границах населенных пунктов, находящихся в зоне шумового воздействия крупных транспортных магистралей, что позволило разработать и обосновать алгоритм прогнозирования акустической обстановки в границах населенных пунктов, формируемой автомобильным и железнодорожным транспортом; с учетом данных инструментальных измерений в базовых точках с целью дальнейшего ранжирования территории исследованных населенных пунктов по уровню шумового воздействия разработан метод гигиенической оценки транспортного шума на границах населенных пунктов при эксплуатации железнодорожных путей и автомобильных дорог общего пользования, позволяющий получать системные данные шумового загрязнения территорий населенных мест для планирования профилактических мероприятий;

изучение особенностей распространения общей вибрации, формируемой рельсовым транспортом, в помещениях зданий различного назначения;

научное обоснование и разработка метода гигиенического нормирования запаха в атмосферном воздухе территорий населенных пунктов с определением критериев выбора территорий,

нуждающихся в оценке и контроле запаха в атмосферном воздухе территорий населенных пунктов в зонах воздействия объектов, технологический процесс которых обуславливает выбросы как изолированных веществ, так и веществ, формирующих смеси, обладающие специфическим запахом;

научное обоснование метода оценки риска здоровью населения от комбинированного воздействия химических веществ, загрязняющих атмосферный воздух в период неблагоприятных метеорологических условий рассеивания выбросов, включающее формирование перечня метеорологических показателей, определяющих условия рассеивания производственных выбросов загрязняющих веществ в атмосферном воздухе на территориях жилой застройки в зонах воздействия производственных объектов;

научно обоснована предельно допустимая концентрация для приоритетных цианотоксинов (микроцистина-LR и цилиндропермопсина) в воде водных объектов для хозяйственно-питьевого и культурно-бытового (рекреационного) использования и метод оценки риска здоровью при питьевом и рекреационном водопользовании, ассоциированного с цветением водорослей в водных объектах хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования;

обоснованы принципы формирования перечня действующих веществ средств защиты растений для отечественной и импортной пищевой продукции растительного происхождения и воды с целью их лабораторного контроля, выявлены сельскохозяйственные культуры, вносящие наибольший вклад в формирование алиментарной экспозиции остаточными количествами действующих веществ средств защиты растений и проведен расчет теоретического максимального поступления отдельных действующих веществ средств защиты растений с пищевой продукцией растительного происхождения и водой;

разработан метод оценки риска здоровью, ассоциированного с миграцией химических веществ из упаковки и материалов, контактирующих с пищевой продукцией, и проведена его апробация, разработан метод гигиенической оценки миграции химических веществ из биоразлагаемых материалов, предназначенных для контакта с пищевой продукцией;

усовершенствована методология гигиенической оценки химического состава рационов и гигиеническая оценка нутритивных (нутригенных) рисков здоровью на основе анализа химического состава репрезентативных рационов;

изучены механизмы и общие закономерности развития алиментарно-зависимых заболеваний, а также заболеваний, в развитии которых фактор питания играет важную роль, разработаны и внедрены в практику научно обоснованные мероприятия по снижению алиментарно-обусловленных рисков как основы здоровьесбережения населения;

обоснованы подходы к гигиенической оценке компонентного состава пищевой продукции нового вида на основе потенциального влияния на здоровье;

оценены социальные факторы нерационального питания и обоснованы меры регулирования маркетинга пищевой продукции, направленного на детей;

разработан алгоритм формирования приверженности населения к здоровому образу жизни.

2. Разработка методов и тест-моделей для выявления направленности, количественной оценки, экспериментального моделирования биологического действия факторов среды обитания человека различной природы, в том числе с использованием биомаркеров воздействия и эффекта, обеспечивающих их гигиеническое регламентирование и лабораторный контроль:

разработка метрологически аттестованных методик измерений:

– нитрила акриловой кислоты, метилметакрилата и метилакрилата, толуола, м-, п- и о-ксилолов, бензола, этилбензола, стирола и этиленгликоля в воздухе рабочей зоны промышленных предприятий хроматографическим методом и 13 гигиенически значимых элементов (металлов) в воздухе рабочей зоны методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой;

– фармацевтических субстанций артикаина гидрохлорид и рамиприл в атмосферном воздухе и воздухе рабочей зоны спектрофотометрическим методом;

– гексаметилендиамина в воздушной среде из товаров народного потребления, изготовленных из изделий из полиамидов, методом высокоэффективной жидкостной хроматографии;

разработаны новые метрологически аттестованные методики измерений:

– общей вибрации в условиях проживания населения;

– микроцистина-LR в воде водных объектов для хозяйственно-питьевого и культурно-бытового (рекреационного) использования методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием;

– консервантов орто-фенилфенола и дифенила в фруктах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуорометрическим детектированием;

– туйона в табачной продукции методом газожидкостной хроматографии с пламенно-ионизационным детектированием;

– 3 токсичных и 10 эссенциальных элементов в биологически активных добавках к пище и специализированной пищевой продукции для детей раннего возраста на молочной основе методом атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой;

– фармацевтической субстанции дифенгидрамина гидрохлорид в воздухе рабочей зоны предприятий фармацевтической промышленности;

разработан межгосударственный стандарт ГОСТ 35223-2024. Материалы различного состава. Методы определения уровней миграции хлорбензола, выделяемого из изделий из поликарбоната, в водную и воздушную среды;

разработаны молекулярно-генетические экспресс-методы качественного выявления патогенных микроорганизмов рода *Salmonella* и вида *Listeria monocytogenes* в смывах с поверхностей объектов технологического окружения пищевых производств;

разработаны приемы одновременного определения остаточных количеств действующих веществ средств защиты растений методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием с использованием пробоподготовки QuEChERS для различного вида пищевых матриц и воды;

научно обоснована методология биологического действия факторов среды обитания человека, разработана батарея экспериментальных моделей на основе гидробионтов для количественной оценки интегральной токсичности водных объектов и водных вытяжек из продукции, сформирована коллекция инновационных тест-моделей.

3. Разработка комплекса мероприятий по профилактике негативного воздействия факторов высокого риска формирования профессиональной и производственно обусловленной патологии, направленных на снижение заболеваемости работающего населения от неинфекционных заболеваний:

проведены экспериментальные исследования и определена гигиеническая значимость показателей безопасности средств индивидуальной защиты органов дыхания, учитывающих их эффективность и влияние на физиологические функции организма, разработаны дополнительные санитарно-эпидемиологические требования к изделиям медицинского назначения для защиты органов дыхания;

разработан метод управления профессиональным риском здоровью медицинских работников организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь в стационарных условиях в период эпидемического подъема заболеваемости респираторными инфекциями;

научно обоснованы критерии установления производственной обусловленности общесоматической патологии и наиболее значимые показатели заболеваемости с временной утратой трудоспособности для целей оценки профессиональных рисков здоровью, разработан метод оценки состояния здоровья работающих на основе анализа заболеваемости с временной утратой трудоспособности, включающий алгоритм проведения анализа и статистической обработки полученных результатов.

4. Научное обоснование и разработка здоровьесберегающих мер по оптимизации среды обитания, в том числе образовательной и жилой среды:

изучение особенностей физического развития детей дошкольного возраста в современных условиях, подтверждающих несоответствие действующей ростовой шкалы антропометрическим показателям современных дошкольников;

научно обоснованы критерии оценки соответствия мебели росто-возрастным особенностям воспитанников учреждений дошкольного образования, что позволило разработать метод гигиенической оценки мебели с учетом особенностей физического развития воспитанников учреждений дошкольного образования;

мониторинг использования дошкольниками электронных устройств в современных условиях жизнедеятельности;

изучение суточной двигательной активности современных детей дошкольного и школьного возраста.

5. Разработка методов оценки и моделей расчета доз облучения населения и персонала при эксплуатации радиационных объектов и в случае радиационной аварии, а также в ситуации существующего облучения:

разработаны метод оценки радиационной безопасности населения от выбросов радиоактивных веществ в атмосферный воздух и сбросов в хозяйственно-бытовую канализационную систему

в окружающую среду при нормальной эксплуатации радиационных объектов, а также метод оценки эффективности радиационного контроля доз облучения персонала при нормальной эксплуатации радиационных объектов;

проводятся исследования в области оценки доз облучения населения, уровня радиоактивного загрязнения пищевых продуктов и питьевой воды, совершенствования методов радиационно-гигиенического мониторинга вокруг объектов атомной энергетики и на территориях, загрязненных в результате катастрофы на ЧАЭС;

проводится оценка доз облучения населения природными радионуклидами, включая радон-220 в помещениях;

оцениваются дозы облучения медицинского персонала и пациентов;

проводится оценка радиационной безопасности населения от пунктов захоронения радиоактивных отходов.

б. Развитие актуальных направлений профилактической, экологической и промышленной токсикологии и химической безопасности, санитарной микробиологии:

разработан и апробирован метод оценки гемосовместимости *in vitro* изделий медицинского назначения, имеющих краткосрочный, длительный и постоянный контакт с мягкими и костными тканями, кровотоком человека, на основе тест-модели искусственного кровотока;

научно обоснован показатель безопасности и безвредности для здоровья человека биологического действия медицинских изделий – гемосовместимость *in vitro*;

разработан перечень режимов и условий хранения для моделирования «старения» медицинских изделий одноразового применения;

в хронических экспериментах по ингаляционному воздействию на организм белых крыс фармацевтических субстанций антибактериальных лекарственных средств клиндамицина гидрохлорид и цефепима гидрохлорид установлены особенности их дозозависимого биологического действия, определены эффективные, пороговые и недействующие концентрации по критерию ведущего вредного токсического действия на организм, обоснованы с учетом токсического, аллергического и дисбиотического действия величины их ПДК в воздухе рабочей зоны с отнесением ко II классу опасности – высоко опасным химическим веществам;

разработаны рациональные методические подходы по изучению токсического и специфического действия на организм фармацевтических субстанций антибактериальных лекарственных средств, включающие дизайн исследований по обоснованию ПДК в воздухе рабочей зоны, унифицированные экспериментальные методы определения перечня необходимых показателей, критерии оценки и принципы обоснования величины ПДК, формализованные в проекте инструкции по применению;

дана экспериментальная оценка особенностей общетоксического системного действия и специфических проявлений токсичности фармацевтической субстанции артикаина гидрохлорид на бронхолегочную систему при различных уровнях ингаляционной экспозиции, обоснованы гигиенические нормативы содержания в воздухе рабочей зоны фармацевтических субстанций артикаина гидрохлорид и рамиприл на основе изучения особенностей биологического действия в хроническом эксперименте при ингаляционном пути поступления;

на основе изучения образцов различных видов средств бытовой химии и обоснования их оптимальных концентраций рабочих растворов, экспозиции воздействия при экспериментальном моделировании, классификационной характеристики выраженности симптомов раздражения хориоаллантаоисной мембраны и их интегральной оценки в баллах разработан альтернативный метод определения *in vitro* раздражающего действия средств бытовой химии с использованием хориоаллантаоисной мембраны куриного эмбриона, замещающий классический тест Драйза на лабораторных животных;

в экспериментах *in vivo* и тестах *in vitro* изучено биологическое действие модифицированных катехоловым фрагментом полисахаридов (конъюгаты хитозана с галловой, кофейной и феруловой кислотами), а также модельных растворов из ультратонких покрытий на основе данных конъюгатов.

7. Геномные и нанотехнологии в лабораторной диагностике, медицинской профилактике и этиопатогенетической терапии инфекционных и иммунных заболеваний человека:

разработка и внедрение метода идентификации генотипов вируса клещевого энцефалита;

установление молекулярно-генетических характеристик *Giardia Lamblia*, циркулирующих на территории Республики Беларусь;

разработка технологии и освоение производства набора реагентов для детекции норовирусов методом аптамерферментного анализа;

разработка технологии получения рекомбинантного рецептор-связывающего домена коронавируса SARS-CoV-2 и создание на его основе набора реагентов для количественного определения IgG к SARS-CoV-2;

разработка и производство мультиплексной тест-системы для дифференциальной диагностики COVID-19 и гриппа, изучение особенностей ко-циркуляции SARS-CoV-2 и вирусов гриппа в Республике Беларусь;

разработка тест-системы для детекции шигатоксин-продуцирующей *Escherichia coli* (STEC) на основе ПЦР в реальном времени и алгоритма диагностики гемолитико-уремического синдрома;

разработка мультиплексной ПЦР технологии и набора реагентов для детекции вирусов гепатита А и Е;

разработка набора реагентов для идентификации антигенов возбудителей геморрагической лихорадки с почечным синдромом, циркулирующих на территории Республики Беларусь;

разработка и производство эталонных штаммов клинически и эпидемиологически значимых микроорганизмов;

выявление молекулярных клеточных биомаркеров и роли возбудителей с внутриклеточным циклом развития в этиопатогенезе холестеатомы среднего уха.

8. Молекулярно-эпидемиологическое слежение за механизмами резистентности возбудителей инфекционных заболеваний к химиотерапевтическим средствам, средствам дезинфекции и антисептики, обоснование способов преодоления резистентности:

разработка и внедрение методов определения генов резистентности к колистину у клинически значимых грамотрицательных бактерий;

разработка и внедрение алгоритма выявления резистентности *Mycoplasma genitalium* к макролидам, фторхинолонам и тетрациклинам;

разработка и внедрение алгоритма выявления мутаций резистентности клинически значимых β -герпесвирусов (цитомегаловируса, вируса герпеса человека 6В) к противовирусным препаратам у реципиентов гемопоэтических стволовых клеток;

установление деконтаминирующих и дезинтегрирующих свойств дезинфицирующих средств в отношении биопленок разного состава и стадий развития;

изучение распространенности генетических детерминант резистентности к макролидам *Mycoplasma pneumoniae* в Республике Беларусь и разработка метода их выявления на основе ПЦР в режиме реального времени;

изучение влияния мутаций лекарственной устойчивости вируса SARS-CoV-2 на течение заболевания и эффективность применения средств противовирусного действия для лечения в отношении актуальных штаммов вируса и разработка алгоритма молекулярно-генетических исследований для их выявления;

разработка и внедрение молекулярно-генетических методов определения устойчивости грамотрицательных бактерий, вызывающих инфекции кровотока, к цефалоспорином.

9. Методическая база молекулярно-эпидемиологического слежения за патогенными биологическими агентами, предотвращения и эффективного реагирования на чрезвычайные ситуации в здравоохранении:

разработка и внедрение метода выявления этиологических агентов гемолитико-уремического синдрома у детей;

разработка алгоритма прогнозирования течения заболевания легких, вызванного *Mycobacterium tuberculosis* с множественной лекарственной устойчивостью;

разработка алгоритма анализа состава микробиоты кишечника у пациентов с артериальной гипертензией и ожирением;

изучение аллельных полиморфизмов генов, ассоциированных с развитием полиноза;

изучение характеристик устойчивости и протективности постинфекционного и поствакцинального иммунитета к коронавирусу SARS-CoV-2 у реципиентов почки и печени;

разработка алгоритма молекулярно-биологической диагностики атипичных респираторных патогенов *Simkania negevensis* и *Parachlamydia acanthamoeba*;

установление распространения на территории Республики Беларусь генотипов *Leptospira interrogans*;

оценка воздействия метилксантинов на состояние клеточного иммунного ответа и их клинической эффективности у пациентов с COVID-19;

разработка алгоритма обеспечения требований биологической безопасности лабораторного обращения полиовирусов в Республике Беларусь на заключительной стадии ликвидации полиомиелита;

разработка алгоритма комплексной оценки популяционного иммунитета к вакциноуправляемым вирусным инфекциям;

разработка метода оценки возможности заболевания гриппом и COVID-19 и установление профилактической эффективности вакцин, используемых для массовой вакцинопрофилактики гриппа и COVID-19 в Республике Беларусь;

разработка и внедрение алгоритма определения эпидемически связанных вновь выявленных случаев ВИЧ-инфекции;

разработан метод молекулярно-генетической идентификации вариантов вируса SARS-CoV-2;

разработана технология и производство наборов реагентов для выявления и количественного анализа вирусного загрязнения воды;

разработан алгоритм прогнозирования неблагоприятного течения сепсиса у детей, основанного на комплексной оценке иммунологических, биохимических и молекулярно-генетических маркеров;

разработан и внедрен алгоритм аутентификации клеточных линий человека и животных на основе ДНК-профилирования и молекулярно-генетических методов выявления организмов-контаминантов.

10. Совершенствование системы подготовки специалистов в области гигиены, токсикологии, профилактической медицины, эпидемиологии, микробиологии и вирусологии: на базе НИИ ГТ ЭВМ РЦГЭиОЗ функционирует образовательный центр «МОЦНА», реализуются образовательные программы повышения квалификации руководящих работников и специалистов, стажировки, обучающие курсы, подготовка осуществляется в очной (дневной) и заочной формах получения образования. При подготовке и реализации образовательных программ активно используются собственные научные разработки, полученные в ходе выполнения отраслевых и государственных научных программ, а также результаты международного сотрудничества.

В 2024 г. специалистами НИИ ГТ ЭВМ РЦГЭиОЗ успешно реализованы 2 образовательные программы повышения квалификации, 12 образовательных программ стажировки руководящих работников и специалистов, 5 образовательных программ обучающих курсов в форме тематических семинаров и вебинаров. Проведены 5 стажировок, включенные в образовательные программы повышения квалификации руководящих работников и руководителей УО «БГМУ», теоретические и практические занятия в рамках образовательной программы повышения квалификации ГУО «Институт повышения квалификации и переподготовки руководителей и специалистов промышленности «Кадры индустрии» (обучено 83 специалиста).

Организованы 10 семинаров и онлайн-лекций в рамках оказания экспертной и методической помощи органам и учреждениям, осуществляющим государственный санитарный надзор, в том числе выездные в регионы Республики Беларусь (участие приняли более 900 специалистов санитарно-эпидемиологической службы Республики Беларусь).

Продолжена практика обучения студентов и магистрантов ведущих вузов Республики Беларусь, Российской Федерации, Кыргызской Республики, Республики Казахстан, Республики Узбекистан по образовательной программе «Основы профилактической токсикологии» (в 2024 году обучено 72 человека).

Реализация практико-ориентированных образовательных программ в области гигиены, токсикологии и профилактической медицины, эпидемиологии, микробиологии и вирусологии помогла повысить уровень профессионализма специалистов системы здравоохранения, обновить теоретическую и практическую базу знаний, освоить новые методы решения профессиональных задач.

Таким образом, основные предложения и мероприятия резолюций предыдущих конференций выполнены.

РЕШЕНИЕ
МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
«ЗДОРОВЬЕ И ОКРУЖАЮЩАЯ СРЕДА»,

5–6 декабря 2024 г.

Участники конференции констатируют, что в основе развития гигиенической науки Беларуси остается профилактическая направленность деятельности, разработка и внедрение в практику передовых методов выявления и количественной оценки неблагоприятного действия факторов среды обитания человека, научное обеспечение государственного санитарно-эпидемиологического надзора.

В области вирусологии, микробиологии и эпидемиологии оценено современное состояние научно-исследовательских работ, выполнен обмен научной информацией, обсуждены приоритетные направления совершенствования эпидемиологического слежения за инфекционными и паразитарными болезнями, перспективы создания и возможности использования в практике новых технологий диагностики и медицинской профилактики.

Заслушав и обсудив доклады, участники конференции отмечают необходимость продолжить научные исследования по следующим направлениям:

в области гигиены окружающей среды и оценки рисков:

комплексная оценка загрязнения атмосферного воздуха и уровней шума от производственных источников при размещении промышленных и иных объектов в части минимизации рисков здоровью населения, ассоциированных с загрязнением атмосферного воздуха и воздействием физических факторов;

разработка и научное обоснование методических подходов к гигиенической оценке общей вибрации на территории жилой застройки;

научное обоснование и корректирование гигиенических показателей безопасности и безвредности воздействия общей вибрации на человека в помещениях жилых и общественных зданий, разработка и метрологическая аттестация методики измерений уровней общей вибрации на территории жилой застройки;

в области промышленной, профилактической и экологической токсикологии:

разработка алгоритма проведения исследований по изучению сроков годности медицинских изделий одноразового применения;

оптимизация и стандартизация условий подготовки, транспортировки и получения вытяжек из медицинских изделий, стерилизованных окисью этилена для разработки метода их гигиенической оценки;

разработка рациональных методов токсикологических и микробиологических исследований дезинфицирующих средств для бассейнов и аквапарков, обеспечивающих их гигиеническую оценку на соответствие полному перечню показателей безопасности и эффективности;

внедрение рациональных методических подходов к обоснованию гигиенических нормативов содержания в воздухе рабочей зоны и атмосферы новых фармацевтических субстанций антибактериальных лекарственных средств с учетом их специфических аллергических и дисбиотических свойств;

разработка и научное обоснование гигиенических нормативов и классов опасности в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе химических веществ и композиций, новых фармацевтических субстанций лекарственных средств;

в области санитарной микробиологии:

разработка новых эффективных методов контроля микробиологического статуса объектов среды обитания человека, в том числе внутрибольничной среды;

развитие методологии тестирования эффективности химических и физических факторов среды обитания человека с антимикробной активностью;

в области гигиены труда и профпатологии:

изучение особенностей условий труда работающих, занятых в условиях инфракрасного облучения, с проведением комплексной гигиенической оценки, измерением уровней и спектральных характеристик источников инфракрасного излучения на рабочих местах производств машиностроения;

разработка гигиенических критериев оценки факторов производственной среды и производственных процессов, канцерогенных для человека, подходов к классификации и категоризации (гармонизации) перечня канцерогенных факторов производственной среды и производственных процессов с международными классификациями;

в области гигиены детей и подростков:

изучение в динамике функционального состояния зрительного анализатора, центральной нервной системы, оценка состояния здоровья и физического развития детей, находящихся в световой среде, формируемой разными видами источников света;

разработка гигиенических требований к световой среде помещений для детей, формируемой светодиодными источниками света;

изучение физического развития детей различных регионов Республики Беларусь с целью изучения направленности секулярных изменений и обоснования обновленных региональных нормативов физического развития;

изучение особенностей образа жизни детей в современных условиях жизнедеятельности, включающее мониторинг использования электронных устройств и учет суточной двигательной активности;

изучение изменений факторов внутришкольной среды, связанных с развитием промышленного производства продукции, внедрением инновационных технологий и оказывающих влияние на здоровье современных детей, в том числе создание искусственной световой среды, формируемой светодиодными источниками света;

методическая помощь в работе по гигиеническому воспитанию детей и подростков с целью формирования у них устойчивой мотивации на здоровый образ жизни;

в области гигиены питания:

разработка методов гигиенической оценки остаточных количеств действующих веществ средств защиты растений в пищевой продукции растительного происхождения и воде с использованием оценки рисков;

обоснование и разработка гигиенических нормативов содержания приоритетных контаминатов природного (микотоксины) и антропогенного (полихлорированные бифенилы) загрязнения пищевой продукции;

проведение оценки риска здоровью населения, ассоциированного с содержанием кадмия в отдельных видах пищевой продукции;

разработка методических подходов к комплексной гигиенической оценке пищевой продукции с учетом пользы и негативных эффектов для здоровья;

разработка методических подходов по оптимизации рационов питания различных половозрастных групп населения республики;

в области радиационной защиты населения и персонала:

разработка новых критериев радиационной защиты пациентов от диагностических рентгеновских рентген-процедур;

оценка доз облучения населения и персонала при нормальной эксплуатации радиационных объектов и в случае радиационной аварии, а также в ситуации существующего облучения;

совершенствование методов радиационного контроля доз облучения персонала;

оценка доз облучения и риска здоровью населения от проживания на территориях, загрязненных в результате катастрофы на ЧАЭС;

в области санитарной химии:

разработка и метрологическая аттестация новых методик измерений факторов среды обитания человека согласно требованиям законодательства в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения, в том числе требованиям безопасности и безвредности для организма человека: по определению содержания метилртути в рыбе методом газовой хроматографии; массовой концентрации свинца и кадмия в пищевых добавках и ароматизаторах методом атомной спектрометрии; уровней миграции загрязнителей в воздухе рабочей зоны промышленных предприятий и в атмосферном воздухе (металлы, приоритетные органические соединения, фармсредства); гексаметилендиамина в воздушной среде из товаров народного потребления, изготовленных из изделий из полиамидов, методом высокоэффективной жидкостной хроматографии;

разработка метрологически аттестованной методики одновременного измерения массовых концентраций остаточных количеств действующих веществ средств защиты растений в пищевых продуктах растительного происхождения и воде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием;

в области профилактической медицины и формирования здорового образа жизни у населения:
совершенствование санитарно-противоэпидемиологических мероприятий, направленных на профилактику ХНИЗ, работа с населением по формированию приверженности к здоровому образу жизни;

изучение роли фактора питания в формировании хронических неинфекционных заболеваний и корректровке нарушения статуса питания и пищевого поведения;

формирование образовательных кластеров для информирования медицинских работников различных специальностей и населения правилам здорового питания, принципам составления рационов в зависимости от сопутствующей патологии и потребностей;

иницирование создания корпоративных программ по укреплению здоровья работающих в организованных трудовых коллективах по различным направлениям;

в области эпидемиологического слежения за возбудителями инфекционных болезней:

разработка и внедрение молекулярно-генетических методов диагностики в систему эпидемиологического слежения актуальных для Республики Беларусь инфекций (острые и тяжелые острые респираторные инфекции, грипп, COVID-19, вакциноуправляемые, кишечные, природно-очаговые инфекции, заболевания, представляющие опасность для здоровья населения, вызываемые труднокультивируемыми микроорганизмами и др.);

продолжение эпидемиологического слежения, основанного на полногеномном секвенировании, в отношении возбудителей ВИЧ, гепатита С, SARS-CoV-2;

исследования по генотипированию и определению возбудителей инфекционных заболеваний и лекарственной устойчивости к противовирусным и противомикробным препаратам;

молекулярно-генетический мониторинг возбудителей инфекционных заболеваний, анализ их генетических сходств и различий для обеспечения постоянной готовности к проведению диагностики инфекционных заболеваний, представляющих чрезвычайную ситуацию в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера, в том числе новых, редких, ранее не встречавшихся и (или) вновь возвращающихся, на территории Республики Беларусь;

в области диагностики инфекций:

совершенствование, разработка и производство изделий медицинского назначения для диагностики инфекционных заболеваний на основе геномных, протеомных и биоинформационных технологий, их внедрение в практическом здравоохранении и других отраслях, в том числе с использованием коллекционного фонда патогенных биологических агентов;

разработка и внедрение в практику современных методов, новых технологий, алгоритмов действий и средств для индикации и идентификации возбудителей инфекций человека в биологическом материале и объектах внешней среды (воде, пищевой продукции, предметах среды обитания человека), направленных на решение различных практико-ориентированных задач;

разработка и внедрение новых критериев вирусологической и микробиологической оценки качества воды и пищи на предмет их безопасности для здоровья человека в отношении патогенных вирусов и бактерий;

разработка и внедрение стандартных образцов эталонных штаммов микроорганизмов, отнесенных к категории критических для социально-экономического развития;

в области фундаментальных исследований:

исследования генетической вариабельности вирусов, процессов и механизмов, лежащих в основе возникновения и распространения новых, потенциально опасных геновариантов возбудителей с использованием различных технологий исходя из характера генома возбудителей;

установление генетической изменчивости и разнообразия возбудителей социально значимых и особо опасных вирусных инфекций;

получение и использование экспрессирующих систем на основе лентивирусных векторов для доставки в профессиональные антигенпрезентирующие клетки поливалентных мозаичных иммуногенов для иммунотерапии вирусных заболеваний;

разработка технологии получения рекомбинантных аллергенов с использованием методов генетической инженерии, производство собственных эндемичных аллергенов и их применение в диагностике и иммунотерапии аллергических заболеваний;

разработка и внедрение технологии получения молекулярных клонов эпидемически значимых вирусов как основы для быстрой и направленной аттенуации их патогенных свойств с помощью методов генетической инженерии;

развитие технологии генетического редактирования клеточных генов, ответственных за проведение иммунных сигналов, для получения перевиваемых клеточных линий, позволяющих размножать широкий спектр вирусов с высокими титрами;

установление этиопатогенеза заболеваний неинфекционной природы (ЦНС, бронхолегочных и других) и наноструктур при прионных заболеваниях с помощью атомно-силовой и электронной микроскопии;

в области международного научно-технического сотрудничества:

реализация положений Роттердамской конвенции во исполнение Закона Республики Беларусь № 355-3 от 26 февраля 2024 г. «О присоединении Республики Беларусь к Роттердамской конвенции о процедуре предварительного обоснованного согласия в отношении отдельных опасных химических веществ и пестицидов в международной торговле»;

реализация международных проектов по направлениям, связанным с вопросами сохранения здоровья населения в связи с факторами среды обитания;

сопровождение участия в Европейском процессе «Окружающая среда и здоровье», Европейской целевой группе ВОЗ по окружающей среде и охране здоровья, Глобальной рамочной программе ЮНЕП/ООН по химическим веществам, Партнерстве ВОЗ по биомониторингу человека, Глобальных лабораторных сетях ВОЗ по полиомиелиту, кори/краснухе, гриппу и др.

в области подготовки кадров:

интеграция научной деятельности в образовательный процесс, разработка обучающих программ в соответствии с потребностями санитарно-эпидемиологической службы для оперативного решения задач по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения, руководителей и специалистов других направлений в рамках компетенции, организация образовательных выездных обучающих научно-практических семинаров для представления новых методов и методик, технологий, диагностических тест-систем.

Резолюция обсуждена и единогласно одобрена участниками международной научно-практической конференции «Здоровье и окружающая среда», 5–6 декабря 2024 г.

**РЕЗОЛЮЦИЯ
КРУГЛОГО СТОЛА «РЕГУЛИРОВАНИЕ ОСОБО ОПАСНЫХ ПЕСТИЦИДОВ.
БЕЗОПАСНОСТЬ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ. ТОКСИКОЛОГИЯ»
(ПРИ ПОДДЕРЖКЕ ПРООН В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ), ПРОВЕДЕННОГО В РАМКАХ
МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
«ЗДОРОВЬЕ И ОКРУЖАЮЩАЯ СРЕДА», 5–6 ДЕКАБРЯ 2024 г.**

Круглый стол «Регулирование особо опасных пестицидов. Безопасность химической продукции. Токсикология» проведен при поддержке ПРООН в Республике Беларусь в рамках международной научно-практической конференции «Здоровье и окружающая среда», 5–6 декабря 2024 г.

В работе круглого стола приняли участие более 60 представителей Республики Беларусь, Российской Федерации, Турции, как из ведущих научных учреждений, Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, ПРООН, ГУ «Главная государственная инспекция по семеноводству, карантину и защите растений», так и отечественных и зарубежных компаний, имеющих отношение к обороту средств защиты растений, химической продукции (производство, регистрация, реализация и т. д.).

Вопросы, обсуждаемые в процессе работы круглого стола «Регулирование особо опасных пестицидов. Безопасность химической продукции. Токсикология», соответствовали основным направлениям деятельности Министерства здравоохранения Республики Беларусь в области гигиены, профилактической токсикологии.

В области регулирования особо опасных пестицидов и химической продукции выполнены следующие мероприятия:

разработан метод токсиколого-гигиенической оценки эквивалентности технических продуктов пестицидов-дженериков оригинальным действующим веществам;

в рамках развития правовой, нормативной и методической базы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения, гармонизации гигиенических требований Таможенного союза, Евразийского экономического союза с международными нормативами по медицине труда и охране окружающей среде утверждены гигиенические нормативы действующих веществ средств защиты растений в объектах среды обитания, продовольственном сырье, пищевых продуктах (постановление Совета Министров Республики Беларусь «Об утверждении гигиенических нормативов» от 25.01.2021 № 37; в 2022 году с учетом правоприменительной практики, на основании результатов научных исследований в указанный документ внесены изменения (постановление Совета Министров Республики Беларусь от 29.11.2022 № 829);

переработаны Санитарные нормы и правила «Требования к применению, условиям перевозки и хранения пестицидов (средств защиты растений), агрохимикатов и минеральных удобрений», утвержденные постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 27.09.2012 № 149 – подготовлен актуализированный проект документа, который прошел процедуры согласования с заинтересованными, юридическую экспертизу и будет утвержден в установленном законодательством порядке;

запланирована реализация НИОК(Т)Р «Разработать и внедрить научно обоснованные критерии и метод гигиенической оценки особо опасных пестицидов» на 2025–2029 гг. в рамках подпрограммы «Безопасность среды обитания человека» ГНТП «Научно-техническое обеспечение качества и доступности медицинских услуг».

По результатам реализации НИОК(Т)Р будут разработаны:

методы гигиенической оценки химических средств защиты растений для отнесения к категории особо опасных пестицидов по опасным свойствам для здоровья населения;

критерии для отнесения химических средств защиты растений к категории особо опасных пестицидов по опасным свойствам для здоровья населения;

критерии запрета и ограничения использования особо опасных пестицидов по опасным свойствам для здоровья населения;

перечни для запрета и ограничения к применению особо опасных химических средств защиты растений по опасным свойствам для здоровья населения.

Кроме того, на основании результатов экспериментальных исследований на постоянной основе разрабатываются научно обоснованные гигиенические нормативы для новых действующих веществ средств защиты растений в объектах среды обитания, продовольственном сырье, пищевых продуктах с последующим внесением дополнений в постановление Совета Министров Республики Беларусь «Об утверждении гигиенических нормативов» от 25.01.2021 № 37.

РЕШЕНИЕ КРУГЛОГО СТОЛА

«РЕГУЛИРОВАНИЕ ОСОБО ОПАСНЫХ ПЕСТИЦИДОВ. БЕЗОПАСНОСТЬ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ. ТОКСИКОЛОГИЯ» (ПРИ ПОДДЕРЖКЕ ПРООН В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ), ПРОВЕДЕННОГО В РАМКАХ МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ «ЗДОРОВЬЕ И ОКРУЖАЮЩАЯ СРЕДА», 5–6 ДЕКАБРЯ 2024 г.

Заслушав и обсудив доклады, участники круглого стола «Регулирование особо опасных пестицидов. Безопасность химической продукции. Токсикология» отмечают актуальность развития в следующих направлениях:

совершенствование правовых механизмов безопасного обращения с опасными пестицидами, включая внесение изменений в соответствующие законодательные и технические нормативные правовые акты по запрету/ограничению использования особо опасных пестицидов, включенных в список на международном уровне;

изменение порядка регистрации пестицидов с целью обязательной проверки активных компонентов, входящих в состав регистрируемых препаратов, со списком особо опасных пестицидов, утвержденном на международном уровне;

ужесточение контроля за выполнением требований национального и международного законодательства в отношении ввоза и использования пестицидов;

повышение потенциала государственных органов, включая таможенные службы, производителей, поставщиков, фермеров по вопросам обращения с пестицидами;

проведение информационных компаний, направленных на снижение зависимости сельского хозяйства от использования химических средств защиты растений и внедрение альтернативных методов борьбы с сельскохозяйственными вредителями и сорняками;

расширенное внедрение органического сельского хозяйства с поэтапным отказом от особо опасных пестицидов;

решение вопросов по утилизации тары из-под пестицидов экологически безопасными методами;

выполнение научных исследований по разработке и внедрению научно обоснованных критериев и методов гигиенической оценки особо опасных пестицидов с учетом национальных приоритетов;

снижение химической нагрузки на население, использование альтернативных методов и агро-экологических подходов к ведению сельского хозяйства;

разработка и научное обоснование методических подходов по оценке потенциального риска воздействия на работающих при применении средств защиты растений с использованием новых технологий;

широкое использование международного сотрудничества в области обеспечения химической безопасности путем выполнения международных обязательств (по процедуре предварительного обоснованного согласия (PIC) в отношении отдельных опасных химических веществ и пестицидов);

совершенствование информационного обмена между заинтересованными государственными структурами по рациональному регулированию химических веществ, улучшение доступа широкой общественности к информационным данным по опасным химическим веществам и пестицидам;

инициирование исключения особо опасных пестицидов, обладающих отдаленными эффектами, в первую очередь из списка разрешенных для применения населением;

принятие к сведению информации, что согласно Международному списку особо опасных пестицидов (PAN International List of Highly Hazardous Pesticides) манкоцеб является одним из действующих веществ, включенных в перечень особо опасных пестицидов, который официально идентифицирован как эндокринный разрушитель (2 класс опасности), обладает канцерогенным действием (класс опасности 2C);

инициирование рассмотрения на ближайшем заседании Совета по регистрации средств защиты растений и удобрений вопроса о целесообразности продолжения действия разрешения на применение и розничную продажу населению (с учетом аспектов безопасности для здоровья человека) средств защиты растений, содержащих в своем составе действующее вещество манкоцеб.

Резолюция обсуждена и единогласно одобрена участниками круглого стола «Регулирование особо опасных пестицидов. Безопасность химической продукции. Токсикология», проведенного в рамках международной научно-практической конференции «Здоровье и окружающая среда», 5–6 декабря 2024 г.

СОДЕРЖАНИЕ

РАЗДЕЛ 1. ЭКОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ГИГИЕНА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Дроздова Е. В.

МЕТОДОЛОГИЯ ОЦЕНКИ РИСКА ЗДОРОВЬЮ ДЛЯ ОБОСНОВАНИЯ ВРЕМЕННЫХ ОТСТУПЛЕНИЙ ОТ ГИГИЕНИЧЕСКИХ НОРМАТИВОВ ПО ХИМИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ И РЕШЕНИЙ ПРИ ВОЗНИКНОВЕНИИ ЧРЕЗВЫЧАЙНЫХ СИТУАЦИЙ НА СИСТЕМАХ ПИТЬЕВОГО ВОДОСНАБЖЕНИЯ 3

Дудчик Н. В., Емельянова О. А., Науменко С. А., Ивко Н. А.

ТЕХНОЛОГИЯ ПОДДЕРЖАНИЯ МОНОКУЛЬТУР И ПОЛИМИКРОБНЫХ КОНСОРЦИУМОВ МИКРООРГАНИЗМОВ КАК ПРОКАРИОТИЧЕСКИХ ТЕСТ-МОДЕЛЕЙ ДЛЯ ОЦЕНКИ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ И ГИГИЕНИЧЕСКОЙ РЕГЛАМЕНТАЦИИ ФАКТОРОВ СРЕДЫ ОБИТАНИЯ ЧЕЛОВЕКА 20

Дудчик Н. В., Емельянова О. А., Симончик Л. В., Казак А. В., Долгина Н. А.

РЕЗУЛЬТАТЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ ОЦЕНКИ АНТИМИКРОБНОГО ПОТЕНЦИАЛА НЕРАВНОВЕСНОЙ ПЛАЗМЫ НА КОНСОРЦИУМАХ МИКРООРГАНИЗМОВ 23

Кравцов А. В., Соловьева И. В., Баслык А. Ю., Арбузов И. В., Агеев Е. П.

ОЦЕНКА УРОВНЕЙ ОБЩЕЙ ВИБРАЦИИ, СОЗДАВАЕМЫХ МИНСКИМ МЕТРОПОЛИТЕНОМ, В ПОМЕЩЕНИЯХ ЖИЛЫХ И ОБЩЕСТВЕННЫХ ЗДАНИЙ 27

Соловьева И. В., Баслык А. Ю., Кравцов А. В., Арбузов И. В., Агеев Е. П.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ШУМА, СОЗДАВАЕМОГО ПРИ ДВИЖЕНИИ ПАССАЖИРСКИХ ПОЕЗДОВ РЕГИОНАЛЬНЫХ И МЕЖРЕГИОНАЛЬНЫХ ЛИНИЙ БЕЛОРУССКОЙ ЖЕЛЕЗНОЙ ДОРОГИ 33

РАЗДЕЛ 2. РАДИАЦИОННАЯ МЕДИЦИНА

Аветисов А. Р., Делавари Д. М.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АБСОЛЮТНЫХ И ОТНОСИТЕЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ МАССЫ КАЛИЯ В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ РАДИОМЕТРИИ ИЗОТОПА К-40 39

Бондарева Л. Г., Тананаев И. Г.

ПОЛИГОН ЖИДКИХ РАДИОАКТИВНЫХ ОТХОДОВ ГОРНО-ХИМИЧЕСКОГО КОМБИНАТА «СЕВЕРНЫЙ» (КРАСНОЯРСК) – ОЦЕНКА ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ РИСКОВ ДЛЯ НАСЕЛЕНИЯ 48

Киселев С. М., Шлыгин В. В., Зозуль Ю. Н., Ахромеев С. В., Болотник Н. Ф.

ИНТЕГРАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКОЙ ОБСТАНОВКИ В РАЙОНАХ РАСПОЛОЖЕНИЯ ОБЪЕКТОВ ЯДЕРНОГО НАСЛЕДИЯ 54

Котеров А. Н., Ушенкова Л. Н., Дибиргаджиев И. Г., Калинина М. В.

СМЕРТНОСТЬ ОТ ВСЕХ ПРИЧИН И ОТ ВСЕХ РАКОВ ДЛЯ РАБОТНИКОВ ЯДЕРНОЙ ИНДУСТРИИ И ШАХТЕРОВ УРАНОВЫХ РУДНИКОВ СРАВНИТЕЛЬНО С НАИБОЛЕЕ ВРЕДНЫМИ/ОПАСНЫМИ ПРОФЕССИЯМИ (СИНТЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ) 59

<i>Лукьянова Д. В., Суходольская А. А.¹, Василевский Л. Л., Лукашевич Ж. А., Леонтьева Т. Г., Маковская Н. А.</i> УРОВНИ СОДЕРЖАНИЯ РАДОНА ВНУТРИ ПОМЕЩЕНИЙ ЖИЛЫХ И АДМИНИСТРАТИВНЫХ ЗДАНИЙ ВИТЕБСКОЙ ОБЛАСТИ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ ПО СОСТОЯНИЮ НА 2023 ГОД	69
<i>Николаенко Е. В., Бабич Е. А.</i> ДОЗЫ ВНУТРЕННЕГО ОБЛУЧЕНИЯ НАСЕЛЕНИЯ, ПРОЖИВАЮЩЕГО В ЗОНЕ НАБЛЮДЕНИЯ ИГНАЛИНСКОЙ АЭС НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ, ОТ ПОТРЕБЛЕНИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ В 2023 ГОДУ	75
<i>Николаенко Е. В., Елизарова Н. В., Жукова О. М., Гусейнова Д. И.</i> РАДИОАКТИВНОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ И ГОДОВЫЕ ЭФФЕКТИВНЫЕ ДОЗЫ ОБЛУЧЕНИЯ НАСЕЛЕНИЯ ВОКРУГ БЕЛОРУССКОЙ АЭС	79
<i>Роздяловская Л. Ф., Николаенко Е. В., Гусейнова Д. И.</i> ДОЗЫ ВНУТРЕННЕГО ОБЛУЧЕНИЯ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ И НАСЕЛЕНИЯ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ¹³¹ I В ЯДЕРНОЙ МЕДИЦИНЕ	85
<i>Сасноўскі А. В., Авецісаў А. Р., Лукашэвіч Ж. А., Васілеўскі Л. Л., Маджаро А. А., Сасноўская К. А.</i> ДОЗЫ АПРАМЕНЬВАННЯ ЗА КОШТ РАДОНУ ў ЖЫЛЫХ ПАМЯШКАННЯХ СТОЛІНА І СТОЛІНСКАГА РАЁНА	90

РАЗДЕЛ 3. ГИГИЕНА ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ

<i>Грекова Н. А., Карпович Н. В., Полянская Ю. Н., Шепелев Д. С., Итпаева-Людчик С. Л.</i> ПАРАМЕТРЫ ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ДЕТЕЙ ДОШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА	96
<i>Гузик Е. О., Коледа А. Г., Янковская Н. Г., Трошкина В. А., Сидукова О. Л.</i> ХАРАКТЕРИСТИКА УМСТВЕННОЙ РАБОТОСПОСОБНОСТИ УЧАЩИХСЯ БАЗОВОЙ И СРЕДНЕЙ ШКОЛЫ В ДИНАМИКЕ УЧЕБНОЙ НЕДЕЛИ КАК КРИТЕРИЙ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ВОЗМОЖНОСТЕЙ	101
<i>Храмцов П. И., Разова Е. В., Антонова Е. В., Храмцова С. Н.</i> РОЛЬ УЧАСТНИКОВ ЗДОРОВЬЕСБЕРЕГАЮЩЕГО ПРОЦЕССА В ФОРМИРОВАНИИ ЗДОРОВЬЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ	107

РАЗДЕЛ 4. ГИГИЕНА ПИТАНИЯ

<i>Величко О. О., Федоренко Е. В., Цемборевич Н. В., Коломиец Н. Д.¹, Мохорт Т. В.¹</i> ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ЙОДА В ОТДЕЛЬНЫХ ВИДАХ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ	112
<i>Лаврентьева С. М., Семисынов С. О., Позднякова М. А.</i> ИССЛЕДОВАНИЕ ПИЩЕВЫХ ПРИВЫЧЕК ВЗРОСЛОГО НАСЕЛЕНИЯ НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ ПО ДАННЫМ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА	115
<i>Федоренко Е. В., Дроздова Е. В., Журихина Л. Н., Итпаева-Людчик С. Л., Бельшева Л. Л., Тимофеева О. Н., Крымская Т. П., Мачальская Е. С., Свинтилова Т. Н.</i> ИССЛЕДОВАНИЯ СОДЕРЖАНИЯ СТОЙКИХ ОРГАНИЧЕСКИХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ В ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ ЗА 2023 ГОД В РАМКАХ ПРОГРАММЫ ИХ МОНИТОРИНГА	119

<i>Цыганков В. Г., Федоренко Е. В., Бондарук А. М., Осипова Т. С., Журихина Л. Н., Свинтилова Т. Н.</i> ГИГИЕНИЧЕСКОЕ РАНЖИРОВАНИЕ ХЛЕБОБУЛОЧНЫХ ИЗДЕЛИЙ, ПРОИЗВЕДЕННЫХ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ И РЕКОМЕНДОВАННЫХ ДЛЯ ШКОЛЬНОГО ПИТАНИЯ	123
---	-----

РАЗДЕЛ 5. МЕДИЦИНА ТРУДА

<i>Васильева Т. Н., Скворцова В. А., Телюпина В. П.</i> РЕЗУЛЬТАТЫ СУБЪЕКТИВНОЙ ОЦЕНКИ УСЛОВИЙ ТРУДА МЕДИЦИНСКИМИ РАБОТНИКАМИ ОНКОДИСПАНСЕРА И ОТНОШЕНИЯ К СВОЕМУ ЗДОРОВЬЮ	130
--	-----

<i>Герасимиди С. К., Глухов Д. В., Еремеева А. Г., Калинина С. А., Сапрыкина П. Д.</i> ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТОЯНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ У МАШИНИСТОВ ЭЛЕКТРОПОЕЗДОВ, ПЕРЕБОЛЕВШИХ COVID-19 (18 МЕСЯЦЕВ НАБЛЮДЕНИЯ)	135
--	-----

<i>Глухов Д. В., Юшкова О. И., Капустина А. В., Форверц А. Ю.</i> ИНФОРМАТИВНОСТЬ ИНДЕКСА МЫЗНИКОВА В ОЦЕНКЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ РАБОТНИКОВ ЖЕЛЕЗНОДОРОЖНОГО ТРАНСПОРТА В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ	141
---	-----

<i>Клебанов Р. Д., Мадекша И. В., Николаева Е. А., Гутич Е. А.</i> АНАЛИЗ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ С ВРЕМЕННОЙ УТРАТОЙ ТРУДОСПОСОБНОСТИ РАБОТНИКОВ ЛИТЕЙНОГО ПРОИЗВОДСТВА	147
---	-----

<i>Лапко И. В.</i> МЕДИКО-СОЦИАЛЬНАЯ НАПРАВЛЕННОСТЬ РЕАБИЛИТАЦИОННЫХ МЕРОПРИЯТИЙ ПРИ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ	151
---	-----

<i>Мадекша И. В., Николаева Е. А., Итпаева-Людчик С. Л., Зеленко А. В.</i> МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К АНАЛИЗУ РИСКОВ ЗДОРОВЬЮ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ СРЕДСТВ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ	154
--	-----

<i>Преображенская Е. А., Сухова А. В.</i> ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ШУМ И ВИБРАЦИЯ КАК ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ РИСКА АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ	161
---	-----

<i>Фесенко М. А., Голованева Г. В., Морозова Т. В., Мителева Т. Ю., Федосеева Е. В.</i> ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ ТРУДА НА СОСТОЯНИЕ РЕПРОДУКТИВНОГО ЗДОРОВЬЯ МУЖЧИН-РАБОТНИКОВ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЙ ОТРАСЛИ	167
--	-----

<i>Шлыгин В. В., Киселев С. М.</i> СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ПОДХОДОВ К ОЦЕНКЕ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ВРЕДНОСТИ НА РАБОЧИХ МЕСТАХ В УСЛОВИЯХ СОЧЕТАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ	173
---	-----

РАЗДЕЛ 6. ТОКСИКОЛОГИЯ

<i>Бердина Е. Л., Гапанович В. Н., Андреев С. В., Филонюк В. А., Павлов К. И., Елисеенко А. Н., Мельник Д. К., Жолудева Д. А.</i> ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИКО-ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ И ВЛИЯНИЯ НА ОРГАН ЗРЕНИЯ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ВАКЦИНЫ БЕЛКОВИДВАК ПРИ ВНУТРИМЫШЕЧНОМ ВВЕДЕНИИ КРОЛИКАМ. СООБЩЕНИЕ 4	178
---	-----

<i>Гапанович В. Н., Васильева Е. Н., Андреев С. В., Бердина Е. Л., Елисеенко А. Н., Мельник Д. К., Бартош М. А., Усова В. С.</i>	
ОЦЕНКА ОСТРОГО ОБЩЕТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ БЕЛОРУССКОЙ ВАКЦИНЫ БЕЛКОВИДВАК ПРОТИВ КОРОНАВИРУСА SARS-COV-2. СООБЩЕНИЕ 3.....	184
<i>Гапанович В. Н., Бердина Е. Л., Филонюк В. А., Андреев С. В., Павлов К. И.</i>	
ВЛИЯНИЕ ПОВТОРНЫХ ВНУТРИМЫШЕЧНЫХ ВВЕДЕНИЙ В НАРАСТАЮЩИХ ДОЗАХ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ВАКЦИНЫ БЕЛКОВИДВАК НА ГУМОРАЛЬНЫЙ И КЛЕТОЧНЫЙ ИММУНИТЕТ КРЫС. СООБЩЕНИЕ 2.....	191
<i>Дроздова Е. В., Дудчик Н. В., Емельянова О. А.</i>	
МЕТОД ОЦЕНКИ ИНТЕГРАЛЬНОЙ ТОКСИЧНОСТИ ВОДНЫХ ВЫТЯЖЕК ИЗ ПОЧВ НАСЕЛЕННЫХ МЕСТ ПО ПАРАМЕТРАМ РАЗВИТИЯ КОНСОРЦИУМА МИКРООРГАНИЗМОВ <i>PSEUDOMONAS SPP</i>	196
<i>Земцова В. О., Богданов Р. В., Шевляков В. В., Филонюк В. А., Емельянова О. А., Эрм Г. И., Чернышова Е. В., Студеничник Т. С., Силич А. И.</i>	
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТОКСИЧЕСКОГО, АЛЛЕРГИЧЕСКОГО И ДИСБИОТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НА ОРГАНИЗМ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ КЛИНДАМИЦИНА ГИДРОХЛОРИД ПРИ СУБХРОНИЧЕСКОМ ИНГАЛЯЦИОННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ.....	200
<i>Земцова В. О., Богданов Р. В., Шевляков В. В., Филонюк В. А., Емельянова О. А., Чернышова Е. В., Баранов С. А., Силич А. И.</i>	
ОБОСНОВАНИЕ И АПРОБАЦИЯ МЕТОДИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОЦЕНКИ ОСТРОГО ДИСБИОТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ.....	209
<i>Ильюкова И. И., Юркевич Е. С., Жмакова Н. А.</i>	
ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА ИНСЕКТИЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ ИЗ ОТХОДОВ ТАБАЧНОЙ ПЫЛИ ПРИ ОДНОКРАТНОМ И ПОВТОРНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ	216
<i>Камлюк С. Н., Юркевич Е. С., Ильюкова И. И., Иода В. И.</i>	
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АЛЬТЕРНАТИВНЫХ ТЕСТ-МОДЕЛЕЙ В СИСТЕМЕ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КЛАССА ОПАСНОСТИ ОТХОДОВ – ОТРАБОТАННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ПИТАНИЯ (БАТАРЕЕК).....	225
<i>Котнова А. П., Аверьянова Н. С., Демидова Ю. В., Егорова О. В., Илюшина Н. А.</i>	
ОЦЕНКА МУТАГЕННОЙ АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ ТЕХНИЧЕСКИХ ПРОДУКТОВ ДЕЙСТВУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ ФУНГИЦИДОВ ИЗ КЛАССА ТРИАЗОЛОВ	233
<i>Лаппо Л. Г., Сычик С. И., Грынчак В. А.</i>	
РАЗРАБОТКА ДИНАМИЧЕСКОЙ <i>IN VITRO</i> ТЕСТ-МОДЕЛИ ИСКУССТВЕННОГО КРОВОТОКА ДЛЯ ОЦЕНКИ ГЕМОСОВМЕСТИМОСТИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ.....	237
<i>Лаппо Л. Г., Сычик С. И., Грынчак В. А.</i>	
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЦЕЛЬНОЙ КОНСЕРВИРОВАННОЙ КРОВИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ГЕМОСОВМЕСТИМОСТИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ <i>IN VITRO</i>	246
<i>Юркевич Е. С., Петрова С. Ю., Крымская Т. П.</i>	
ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КОМПЛЕКСНОГО РИСКА ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПЕСТИЦИДНЫХ ФОРМУЛЯЦИЙ НА ОСНОВЕ БИФЕНТРИНА И ХЛОРАНТРАНИЛИПРОЛА ДЛЯ РАБОТНИКОВ АГРОПРОМЫШЛЕННОГО КОМПЛЕКСА	254

РАЗДЕЛ 7. САНИТАРНАЯ И АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Егорченкова О. Е., Курпединов К. С., Молчанов М. Д.

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ ПРИ ВАЛИДАЦИИ МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ АЗОКСИСТРОБИНА И ЕГО ОСНОВНОГО МЕТАБОЛИТА Z-АЗОКСИСТРОБИНА
В ЗЕРНЕ ХЛЕБНЫХ ЗЛАКОВ МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ
С МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ 261

Ларькина М. В., Курпединов К. С., Молчанов М. Д.

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ОПРЕДЕЛЕНИЮ СОДЕРЖАНИЙ ТРИАЗОЛЬНОГО ФУНГИЦИДА
В РАСТИТЕЛЬНЫХ МАТРИЦАХ РАЗЛИЧНОГО СОСТАВА 268

Лебединская К. С., Крымская Т. П., Чеботкова Д. В., Гук Д. Л.

МЕТОДИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ВЫБОРУ СОРБЕНТА ДЛЯ ОДНОВРЕМЕННОГО КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ
ИЗ ВОЗДУХА РАБОЧЕЙ ЗОНЫ МЕТИЛАКРИЛАТА, МЕТИЛМЕТАКРИЛАТА
И НИТРИЛА АКРИЛОВОЙ КИСЛОТЫ С ИХ ПОСЛЕДУЮЩИМ
ТЕРМОДЕСОРБЦИОННЫМ ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМ АНАЛИЗОМ 274

Федорова Н. Е., Добрева Н. И.

ПРИГОДНОСТЬ МЕТОДА МАТРИЧНОЙ ТВЕРДОФАЗНОЙ ДИСПЕРСИИ В СОЧЕТАНИИ
С ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИЕЙ-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЕЙ
ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ХЛОРООРГАНИЧЕСКИХ ПЕСТИЦИДОВ В СОСТАВНЫХ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ,
В ТОМ ЧИСЛЕ ДЛЯ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ 281

РАЗДЕЛ 8. ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

Казинец О. Н., Амвросьева Т. В., Поклонская Н. В., Колтунова Ю. Б., Бельская И. В.

ТЕХНОЛОГИЯ СОЗДАНИЯ НАБОРОВ ДЛЯ ИНДИКАЦИИ ВИРУСНОЙ КОНТАМИНАЦИИ
ЭПИДЕМИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ 288

Карамышева Ю. С., Гудков В. Г.

ЛАБОРАТОРНАЯ ОЦЕНКА ОВОЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИХ СРЕДСТВ 292

Пархомчук О. Ю., Фомина Е. Г., Новикова Т. П.¹, Доценко Э. А.¹

ПОЛИМОРФНЫЕ ВАРИАНТЫ ГЕНА HLA-DQB1: ГЕНОТИПИРОВАНИЕ
И РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ В ИССЛЕДУЕМОЙ ГРУППЕ 297

Сухова А. В., Преображенская Е. А.

ГИГИЕНИЧЕСКИЕ И МЕДИКО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ
В РАЗВИТИИ КОРПОРАТИВНЫХ ПРОГРАММ СОХРАНЕНИЯ И УКРЕПЛЕНИЯ ЗДОРОВЬЯ 304

Терпинская Т. И.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА АНТИМУТАГЕННОЙ И АНТИКАНЦЕРОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ
ТРАНСГЕННОГО ЛАКТОФЕРРИНА ЧЕЛОВЕКА 309

РАЗДЕЛ 9. ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

Амвросьева Т. В., Поклонская Н. В., Колтунова Ю. Б., Дашкевич А. М., Запольская В. В.

ЭПИЗОДЫ ГРУППОВОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ВИРУСНЫМ
ГЕПАТИТОМ А НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ 317

<i>Аношко О. Н., Лапо Т. П., Савинова О. В., Сивец Н. В., Шмелева Н. П.</i> ЭФФЕКТИВНОСТЬ ВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ СЕЗОННОГО ГРИППА В ПЕРИОДЫ ЭПИДЕМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЯ В 2021–2024 ГГ. В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ	323
<i>Бобер А. О., Глинская И. Н., Дашкевич А. М., Высоцкая В. С., Скуранович А. Л.</i> ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ПАРЕНТЕРАЛЬНЫМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ НАСЕЛЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ ЗА ПЕРИОД 2002–2023 ГГ.....	331
<i>Коломиец Н. Д., Кононович С. И., Светогор Т. Н., Буко О. Г., Романова О. Н.</i> ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВПЕРВЫЕ ДИАГНОСТИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ НА ТЕРРИТОРИИ МИНСКОЙ ОБЛАСТИ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ В 2022–2023 ГГ.	335
<i>Логонова О. П., Шевченко Н. И., Веялкин И. В., Гасич Е. Л.</i> ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ В ГОМЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ	340
<i>Самойлович Е. О., Семейко Г. В., Ермолович М. А., Коломиец Н. Д.¹, Высоцкая В. С., Игнатов К. О.</i> КОРЬ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ В 2023 ГОДУ	346
<i>Семейко Г. В., Самойлович Е. О., Ермолович М. А., Романова О. Н., Байко С. В.</i> СПЕКТР ЭНТЕРОПАТОГЕНОВ У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМИ КИШЕЧНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ И ПОСТДИАРЕЙНЫМ ГЕМОЛИТИКО-УРЕМИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ	351
<i>Сивец Н. В., Шмелева Н. П.</i> ЭТИОЛОГИЯ РЕСПИРАТОРНЫХ ВИРУСОВ У ГОСПИТАЛИЗИРОВАННЫХ ДЕТЕЙ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ ДО И ПОСЛЕ ПАНДЕМИИ COVID-19: ПЕРСПЕКТИВНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ В РАМКАХ НАЦИОНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ НАДЗОРА ЗА ВОЗБУДИТЕЛЯМИ ОРВИ	357
<i>Ухова И. Ф., Ермолович М. А., Самойлович Е. О.</i> ОЦЕНКА ПОПУЛЯЦИОННОГО ИММУНИТЕТА К ПОЛИОВИРУСУ СЕРОТИПА 1 НА ОСНОВАНИИ ВЫЯВЛЕНИЯ ВИРУСНЕЙТРАЛИЗУЮЩИХ АНТИТЕЛ	364
<i>Шуманская С. Ю., Жизневская А. А., Фомина Е. Г., Дронина А. М., Григорьева Е. Е., Сержан Т. А.¹</i> МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЯ <i>GIARDIA LAMBLIA</i> : МУЛЬТИЛОКУСНОЕ ГЕНОТИПИРОВАНИЕ И РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ГРУПП	370

РАЗДЕЛ 10. МЕДИЦИНСКАЯ ВИРУСОЛОГИЯ

<i>Амвросьева Т. В., Богуш З. Ф., Бельская И. В., Поклонская Н. В., Калачик О. В., Комиссаров К. С., Чеботарева Т. К., Щерба А. Е., Фролова М. А.</i> АВИДНОСТЬ ПОСТИНФЕКЦИОННЫХ И ПОСТВАКЦИНАЛЬНЫХ IGG К SARS-COV-2 У РЕЦИПИЕНТОВ ПОЧКИ И ПЕЧЕНИ.....	378
<i>Аринович А. С.</i> МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ, ПАТОГЕНЕЗ И КЛИНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОЛИОМАВИРУСОВ ЧЕЛОВЕКА (ВКV И JCV)	387
<i>Аринович А. С., Амвросьева Т. В.</i> РЕЗУЛЬТАТЫ ДЕТЕКЦИИ ПОЛИОМАВИРУСОВ В СТОЧНЫХ ВОДАХ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ.....	401

<i>Бельская И. В., Амвросьева Т. В., Богуш З. Ф., Поклонская Н. В., Семенов С. Ф., Климович О. В.</i> АНАЛИЗ РЕПРЕЗЕНТАТИВНОСТИ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ПРИ ОЦЕНКЕ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ПРОТИВ SARS-COV-2 В УСЛОВИЯХ РАЗВИТИЯ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ	406
<i>Булда К. Ю., Коско А. Д., Бунас А. С., Гасич Е. Л.</i> ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА SARS-COV-2 С ЦЕЛЬЮ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВАРИАНТОВ ОМИКРОН И ЕГО РЕКОМБИНАНТНЫХ ФОРМ	413
<i>Бунас А. С., Гасич Е. Л., Булда К. Ю., Коско А. Д.</i> ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ПЕРВИЧНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ВИЧ-1 В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ (2018–2019 ГОДЫ)	419
<i>Коско А. Д., Булда К. Ю., Бунас А. С., Гасич Е. Л.</i> АНАЛИЗ МУТАЦИЙ ВИРУСА SARS-COV-2, АССОЦИИРОВАННЫХ С РЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ К МОНОКЛОНАЛЬНЫМ АНТИТЕЛАМ	427
<i>Коско А. Д., Булда К. Ю., Бунас А. С., Гасич Е. Л.</i> МУТАЦИИ В ГЕНОМЕ ВИРУСА SARS-COV-2, СВЯЗАННЫЕ С ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ЛЕКАРСТВЕННЫМ СРЕДСТВАМ ПРЯМОГО ПРОТИВОВИРУСНОГО ДЕЙСТВИЯ	432
<i>Счесленок Е. П., Семижон П. А., Владыко А. С., Дубков Н. А., Семенов С. Ф., Климович О. В., Фомина Е. Г., Булда К. Ю., Гасич Е. Л., Шмельёва Н. П., Дронина А. М.</i> ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗОЛЯТА ВИРУСА SARS-COV-2, ВЫДЕЛЕННОГО В ПЕРИОД ПАНДЕМИИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ	438
<i>Фомина Е. Г., Григорьева Е. Е., Корень С. В., Зверко В. В.</i> АУТЕНТИФИКАЦИЯ КУЛЬТУР КЛЕТОК ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ: СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ	445

РАЗДЕЛ 11. КЛИНИЧЕСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ И АНТИМИКРОБНАЯ ТЕРАПИЯ

<i>Гудков В. Г., Пугач В. В., Анискович Е. Д., Гасич Е. Л., Красько А. Г., Горбунов В. А.</i> ХАРАКТЕРИСТИКА И ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ЭТАЛОННЫХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ, ДЕПОНИРОВАННЫХ В РЕСПУБЛИКАНСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ ПАТОГЕННЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ АГЕНТОВ ПОД БРЕНДОМ BELRIEM®, ПЕРСПЕКТИВЫ НОВЫХ РАЗРАБОТОК	454
<i>Еременко Ю. Е., Титов Л. П., Носова Е. С., Сиделова С. И., Шестакова-Ткаченко Е. В.</i> СОСТАВ МИКРОФЛОРЫ, БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЕ И АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ИЗОЛЯТОВ БАКТЕРИЙ ОТ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ ГНОЙНЫМ СРЕДНИМ ОТИТОМ	462
<i>Зверко В. В., Григорьева Е. Е., Фомина Е. Г.</i> ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА RS909253 (A+252G), КОДИРУЮЩЕГО ЛИМФОТОКСИН-АЛЬФА, В ИССЛЕДОВАННОЙ ПОПУЛЯЦИИ	468
<i>Стаина В. А., Лендина И. Ю., Власенкова С. В., Искров И. А.</i> ИНФЕКЦИИ КРОВОТОКА У ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМИ ЛЕЙКОЗАМИ	473
<i>Сухоцкая Е. А., Малиновская Ю. В., Семижон П. А., Черневская М. В., Павлова О. С.</i> ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ РОЛЬ ДИСБИОЗА КИШЕЧНИКА В ПРОГРЕССИРОВАНИИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ	478

Янович О. О., Тутов Л. П.

ПРОФИЛИ УСТОЙЧИВОСТИ МНОЖЕСТВЕННО-РЕЗИСТЕНТНЫХ *ACINETOBACTER BAUMANNII*,
ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ ОТДЕЛЕНИЙ ХИРУРГИИ И РЕАНИМАЦИИ486

РЕЗОЛЮЦИЯ МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
«ЗДОРОВЬЕ И ОКРУЖАЮЩАЯ СРЕДА», 5–6 ДЕКАБРЯ 2024 Г.498

РЕЗОЛЮЦИЯ КРУГЛОГО СТОЛА «РЕГУЛИРОВАНИЕ ОСОБО ОПАСНЫХ ПЕСТИЦИДОВ.
БЕЗОПАСНОСТЬ ХИМИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ. ТОКСИКОЛОГИЯ» (ПРИ ПОДДЕРЖКЕ ПРООН
В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ), ПРОВЕДЕННОГО В РАМКАХ МЕЖДУНАРОДНОЙ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ «ЗДОРОВЬЕ И ОКРУЖАЮЩАЯ СРЕДА»,
5–6 ДЕКАБРЯ 2024 г.501

Научное издание

**ЗДОРОВЬЕ И ОКРУЖАЮЩАЯ СРЕДА
СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ**

Выпуск 34

Ответственный за выпуск Е. А. Скорина
Компьютерная верстка Д. Н. Серенков
Корректоры Н. К. Фещенко, Е. А. Злотникова

Подписано в печать 24.12.2024. Формат 60×84 1/8. Печать цифровая.
Усл. печ. л. 59.52. Тираж 50 экз. Заказ ____

Издатель – государственное предприятие «Редакция газеты «Гомельская праўда».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/260 от 02.04.2014.
Ул. Полесская, 17А, 246003, г. Гомель. Тел. 8 (0232) 310-100. id@gp.by

Отпечатано в УП «Донарит».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 2/108 от 07.04.2014.
Ул. Октябрьская, 25, 220030 г. Минск. Тел. 8 (017) 389-73-00. www.donarit.com