

С.М. Попкова<sup>1</sup>, С.И. Лешчук<sup>1</sup>, В.В. Анненков<sup>2</sup>, Л.В. Сердюк<sup>1</sup>, Е.А. Шмелева<sup>3</sup>, В.Е. Попова<sup>4</sup>

**ВНЕДРЕНИЕ НОВОГО ИММУНОДИАГНОСТИКУМА ДЛЯ ОЦЕНКИ  
АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ПРОТИВОДИФТЕРИЙНОГО ИММУНИТЕТА С ЦЕЛЬЮ  
ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ (ВСПЫШЕК) ДИФТЕРИИ У НАСЕЛЕНИЯ  
ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ (ИННОВАЦИОННЫЙ ПРОЕКТ 2005–2006 гг.)**

<sup>1</sup> Институт эпидемиологии и микробиологии ГУ НЦ МЭ ВСНЦ СО РАМН (Иркутск)

<sup>2</sup> ГУ Лимнологический институт СО РАН (Иркутск)

<sup>3</sup> ГУ Московский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского (Москва)

<sup>4</sup> ТУ Роспотребнадзора по Иркутской области (Иркутск)

*Создана научная основа для получения и применения нового поколения агглютинационных иммунодиагностикумов, с использованием новых полимеров в качестве конъюгатов. В ходе выполнения проекта подготовлены укрупненные партии тест-систем для определения противобактериальных антител к коринебактериям дифтерии, проведена их апробация на базе центров диагностики, подготовлен пакет научно-технической документации для внедрения разработки в практику.*

**Ключевые слова:** иммунодиагностикум, коринебактерии дифтерии, антибактериальный иммунитет, бактерионосительство

**INTRODUCTION OF NEW IMMUNODIAGNOSTICUM FOR EVALUATION  
OF ANTIBACTERIAL ANTIDIPHTHERIC IMMUNITY FOR PREVENTION OF DIPHTHERIA  
EPISODES IN POPULATION OF IRKUTSK REGION (INNOVATIVE PROJECT 2005–2006)**

S.M. Popkova<sup>1</sup>, S.I. Leshchuk<sup>1</sup>, V.V. Annenkov<sup>2</sup>, L.V. Serduk<sup>1</sup>, E.A. Shmeleva<sup>3</sup>, V.E. Popova<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Institute of Epidemiology and Microbiology SC ME ESSC SB RAMS, Irkutsk

<sup>2</sup> Limnological Institute SB RAS, Irkutsk

<sup>3</sup> G.N. Gabrichevsky's Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow

<sup>4</sup> Territorial Office of Russian Consumers' Supervision in Irkutsk region, Irkutsk

*There has been scientific basis for development and applying of new generation of agglutination immunodiagnosticum using new polymers as conjugates. During fulfillment of the project we have produced batches of test-systems for determination of antibacterial antibodies to diphtheria bacillus, tested them in diagnostic centers, and prepared a packet of scientific and technical documentation for introduction of the development in the practice.*

**Key words:** immunodiagnosticum, corineabacteria of diphtheria, antibacterial immunity, bacteria carrying

Инновационный проект выполнялся творческим коллективом, в состав которого входили сотрудники трех научно-исследовательских институтов и ТУ Роспотребнадзора по Иркутской области, осознающих важность проблемы слежения за дифтерийной инфекцией, имеющих научные наработки по изучению иммунитета против дифтерии и большой научно-практический опыт конструирования диагностических тестовых систем. Основная научная идея, положенная в основу проекта, включала в себя понимание роли длительного носительства дифтерийного микроба в поддержании эпидемического процесса при дифтерии. Ранее было установлено, что созданный с помощью профилактических прививок антитоксический иммунитет обеспечивает невосприимчивость к заболеванию дифтерией. Однако практика показала, что на фоне массовой профилактики населения именно привитые становятся носителями токсигенных коринебактерий дифтерии (*C.d. tox +*) или заболевают дифтерией в легкой форме.

Сказанное определяет необходимость наряду с идентификацией циркулирующих в настоящее

время штаммов *C. diphtheriae* и оценкой антитоксического иммунитета, более широкого изучения противодифтерийного иммунитета. Для определения противодифтерийных антибактериальных антител были разработаны тестовые системы с использованием антигенов препарата «Кодивак» – вакцины бактериальной, дифтерийной, субклеточной, лиофилизированного порошка для приготовления инъекционного раствора, применяемой для иммунотерапии носителей токсигенных *C. diphtheriae* (МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, патент); оригинальные конъюгаты – на основе полимерных кислот (ГУ Лимнологический институт СО РАН, патент). Полученная тестовая система и способ определения антибактериальных антител к дифтерии были запатентованы [9]. Таким образом, к работе над проектом коллектив приступил, имея достаточно крупные предварительные научные наработки.

**Основная цель** данного проекта определялась как подготовка научно-технической документации, описывающей производство иммунодиагностикума (тест-системы в РПГА) для внедрения в

работу практических органов здравоохранения в скрининговых исследованиях по оценке напряженности антибактериального противодифтерийного иммунитета у населения области, что позволит давать прогноз дифтерийного носительства и определять риск развития инфекции (вспышек) при проведении эпидемиологического надзора за дифтерийной инфекцией.

**Область применения результатов:** профилактика инфекционных болезней (дифтерия), практические органы здравоохранения. Заключительный отчет по выполненной теме включал в себя научную часть и пакет приложений, описывающих основные технологические моменты приготовления антигена, полимеров-конъюгатов, изготовления тестовой системы, наставление по применению диагностикума, а также наставление по применению вакцины Кодивак для коррекции антибактериального иммунитета к *C. diphtheriae*.

**Одна из задач** данного проекта — охарактеризовать современное состояние популяционного противодифтерийного иммунитета у населения Иркутской области. Полагаем, что в данной статье резонно обратить внимание именно на выполнение этой задачи.

Многочисленные клинико-иммунологические исследования доказывают, что неблагоприятная экологическая обстановка вызывает нарушение иммунного статуса и может формировать особенности заболеваний, развивающихся на фоне измененной иммунной системы. Становление и развитие иммунной системы служит основой возрастной неустойчивости детского организма к заболеваниям и отличается высокой чувствительностью к действию различных неблагоприятных факторов. Под их влиянием, к которым организм эволюционно не подготовлен, снижается уровень защищенности организма, нарушаются механизмы клеточного и гуморального иммунитета, возникают различные иммунодефицитные состояния. Именно экологическая нагрузка является фактором, непосредственно влияющим на общую резистентность организма, в результате чего создаются условия для нарушения эволюционно закрепленных симбиозов [3, 7, 8]. В конце 20 века в стране начался некоторый подъем заболеваемости дифтерией в крупных городах, где интенсивность передачи возбудителя наиболее активна, заболеваемость по стране достигла 0,59 на 100 тыс. Согласно анализу многих исследователей [2, 4], каждому подъему заболеваемости предшествовал подъем носительства [5]. При этом антитоксический иммунитет не препятствовал возникновению носительства при встрече с токсигенными коринебактериями дифтерии [1, 6].

Таким образом, стало ясно, что в природе носительства именно антибактериальный иммунитет играет наиважнейшую роль.

Неспособность организма к выработке антибактериальных антител приводит к ситуации длительного дифтерийного носительства. Происходит накопление возбудителя среди длительных носи-

телей и широкое распространение микроба (1 носитель способен инфицировать до 10 – 15 лиц). Содержание антитоксических антител, которые стимулируются плановыми вакцинациями дифтерийным анатоксином, традиционно определяются медицинскими службами здравоохранения. Антибактериальные антитела к коринебактериям дифтерии определялись иммунодиагностикомом, приготовленным по усовершенствованной технологии в лаборатории микробиологии. В качестве носителя использовались формализированные эритроциты барана, антиген из нетоксигенных коринебактерий дифтерии (вакцинный вариант), конъюгирующий компонент — высокомолекулярный поли-5-винилтетразол (ПВТ).

Анализ состояния коллективного антитоксического иммунитета против дифтерии. В соответствии с приказом Главного Управления Здравоохранения и Территориального Управления Роспотребнадзора по Иркутской области от 16.08.2005 года № 92/685 «Об организации серологического мониторинга за состоянием коллективного иммунитета» на шести территориях области (гг. Ангарск, Усть-Илимск, Иркутск, Усолье-Сибирское, районах Нижне-Илимском, Шелеховском) проводилось обследование детей и взрослых с целью изучения напряженности иммунитета к дифтерии.

Серологический мониторинг состояния коллективного иммунитета населения является обязательным элементом эпидемиологического надзора. Его роль является важной, поскольку в настоящее время эпидемическое благополучие определяется состоянием поствакцинального иммунитета. Мониторинг осуществляется путем серологических исследований сывороток крови привитых людей. Его целью является оценка состояния индивидуального коллективного иммунитета на конкретной территории, оценка качества прививочной работы.

Охват профилактическими прививками является важным, но косвенным показателем коллективного иммунитета. Объективно его можно оценить лишь при помощи серологического обследования населения. Со времени введения в практику здравоохранения иммунопрофилактики вопрос о длительности и напряженности поствакцинального иммунитета остается в центре внимания. Его решение имеет не только теоретическое, но и практическое значение, поскольку позволяет дать ответ на вопрос о целесообразности проведения прививок.

Для изучения коллективного иммунитета к дифтерии, проводилось серологическое обследование детей, подростков и взрослых.

Обследовались на дифтерию дети 3 – 4 и 16 – 17 лет, взрослые 23 – 25 лет. Всего обследовано 866 человек, 95 % из них защищены от инфекции (824 чел.), у 4,8 % (42 чел.) выявлены низкие титры антител (менее 1 : 20). Оценка состояния специфического иммунитета населения к дифтерии по территориям области осуществлялась по результатам серологического обследования индикаторных групп. Выявление в каждой обследуемой группе

детей не более 10 % лиц с титром дифтерийных антител менее 1 : 20 и взрослых не более 20 % лиц с отсутствием защитных титров дифтерийных и столбнячных антител служит показателем достаточной защищенности от дифтерии.

Ни на одной территории области более 10 % лиц с низкими титрами не выявлено. Уровни охвата профилактическими прививками против дифтерии детей и взрослых г.г. Ангарск, Усть-Илимск, Усолья-Сибирское — 98,0–99,7 %; 97,8–95,8 %; 97,9–99,7 % соответствовали данным серологического исследования.

Заболееваемость дифтерией на современном уровне поддерживается за счет скрытого носительства возбудителя.

Характеристика антибактериального противодифтерийного иммунитета у населения Иркутской области. Уровень нормальных антител к коринебактериям дифтерии является «иммунологическим зеркалом», отражающим как специфическую, так и неспецифическую иммунореактивность человеческой популяции [9]. Для изучения популяционного иммунитета на наличие антибактериальных антител к коринебактериям дифтерии собрано и проанализировано 1 116 образцов сывороток крови от взрослого населения Иркутской области (324 образцов) и произвольной выборки (792 образца) взрослого населения г. Иркутска (табл. 1).

В результате проведенных исследований отмечено, что в настоящее время популяционный показатель уровня антибактериальных антител к коринебактериям дифтерии у взрослого населения довольно низкий и составляет в среднем 0,2 log ед. (титры — 1 : 2–1 : 64). Важно отметить, что у жителей Иркутской области содержание в сыворотке крови антибактериальных антител против дифтерии оказалось в 4–5 раз ниже по сравнению с данными 1996–1998 гг. [11]. По результатам исследований коллективного антибактериального иммунитета в постэпидемический период (1996–1998 гг.) средний титр антител к КД у взрослого населения составлял от 1 до 2–3 log единиц. По нашим данным, в этот же период обследования (1996–1998 гг., Читинская область) было отмечено низкое содержание антибактериальных антител к КД у населения, проживающего в зонах экологического риска (0,2–0,4 log единицы). Эта ситуация складывалась на фоне высокого уровня

дифтерийного носительства и, следовательно, высокой заболеваемости дифтерией.

Исходя из этого, мы полагаем, что в настоящее время формируются условия, при которых становится реальным прогноз вспышки носительства дифтерийного микроба, обусловленный как общим низким антибактериальным иммунитетом у населения, так и небольшой прослойкой лиц с наличием достаточного уровня антител (10 %). Причем, учитывая снижение общей иммунорезистентности населения, проявляющейся в очень низком антибактериальном иммунитете по отношению к коринебактериям дифтерии, носительство токсигенных коринебактерий дифтерии может иметь формы длительного носительства. Как известно, один, даже кратковременный, носитель способен инфицировать до 10 человек.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, исследования в рамках инновационного проекта позволили отработать технологические цепочки получения тест-системы для определения антибактериального противодифтерийного иммунитета и подготовить полный пакет документации для внедрения разработки в практику.

Предлагаемая тест-система представляет собой стабилизированные эритроциты животных, на поверхность которых нанесены иммуноактивные частицы (антигены) и оригинальные конъюгаты-полимеры, обеспечивающие достаточную чувствительность и специфичность системы в РПГА.

При проведении эпидемиологического надзора за дифтерийной инфекцией своевременная работа по выявлению групп риска формирования носительства токсигенных коринебактерий дифтерии с помощью предлагаемой диагностической системы позволит сократить заболеваемость на 15 % и достичь экономического эффекта в размере около 10 млн. руб. за счет снижения затрат на лечение и проведение противоэпидемических мероприятий.

Исполнители проекта выражают искреннюю благодарность директору НЦМЭ, чл.корр. РАМН Л.И. Колесниковой, директору ИЭМ, академику РАМН М.Ф. Савченкова за поддержку проекта на стадии конкурса инновационных проектов, а также при выполнении исследований в рамках проекта.

**Таблица 1**  
**Показатели антибактериального противодифтерийного иммунитета у населения Иркутской области (2005–2006 гг.)**

Группы	Кол-во обследованных	Пределы колебаний титров антител	Доля лиц с наличием антител (%)	Среднее содержание антител среди серопозитивных лиц (log титра)	Средний log титра антител у всей группы
Иркутская обл.	324	1:2–1:64	10,5	2,2	0,2
Иркутск	596	1:2–1:16	11,3	1,6	0,2
Объединенная группа	1116	1:2–1:64	11,1	1,7	0,2

**Примечание:** Иркутская область – жители поселков Гоханы и Кутулик.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Зезин А.Б. Полиакриловая кислота / А.Б. Зезин // Большая российская энциклопедия. Химическая энциклопедия. — М., 1992. — Т. 3. — С. 602.
2. Костюкова Н.Н. Уроки дифтерии / Н.Н. Костюкова // Журн. микробиол. — 1999. — № 2. — С. 92–96.
3. Попкова С.М. Оценка иммунорезистентности популяции при массовых обследованиях населения / С.М. Попкова, Е.Л. Кичигина, Е.А. Шмелева // Бюл. СО РАМН. — 1998. — № 1–2. — С. 40–43.
4. Попова В.Е. О результатах эпиднадзора за дифтерией в Иркутской области / В.Е. Попова, А.Т. Милова, Л.В. Безгодова // Вост.-Сиб. журн. инфекц. патол. — 1995. — Т. 2, № 2–3. — С. 36–37.
5. Ряпис Л.А. Молекулярная эпидемиология дифтерии / Л.А. Ряпис, В.Д. Беляков // Журн. микробиол. — 1998. — № 4. — С. 101–106.
6. Сополимеры 1-винилимидазола и акриловой кислоты для биосепарации / Е.Н. Даниловцева, В.В. Анненков, А.И. Михалева, Б.А. Трофимов // Высокомолек. соед. Сер. А. — 2004. — Т. 46, № 2. — С. 241–246.
7. Способ получения антител к коринебактериям дифтерии: Пат. 2129014 РФ: 6 А 61 К 39/05, 39/39 / В.В. Анненков, С.И. Лещук, С.М. Попкова и др. (РФ). Заявлено 31.03.95; Опубл. 20.04.99, Бюл.
8. Способ приготовления эритроцитарного антигенного диагностикума с применением бактериальных антигенов бифидобактерий, лактобактерий и полимерных кислот: Авторская заявка на изобретение № 9806367 / В.В. Анненков, С.И. Лещук, С.М. Попкова (РФ). Заявлено 7.04.98; Решение о выдаче Патента РФ от 04.02.2002.
9. Способ приготовления эритроцитарного иммунодиагностикума и способ оценки иммунорезистентности организма: Пат. 2142807 РФ: 6 А 61 К 35/18, G 01 N 33/53 / С.И. Лещук, С.М. Попкова, Е.А. Шмелева (РФ). Заявлено 23.03.96; Опубл. 20.12.99, Бюл.
10. Топчиев Д.А. Метакриловой кислоты полимеры / Д.А. Топчиев // Большая российская энциклопедия. Химическая энциклопедия. — М., 1992. — Т. 2. — С. 186.
11. Шмелева Е.А. Биологическая функция антигенов клеточной стенки *C. diphtheriae* и научно-производственная разработка иммуномодулирующего препарата Кодивак: Дисс. ... докт. биол. наук. — М., 1992. — 340 с.