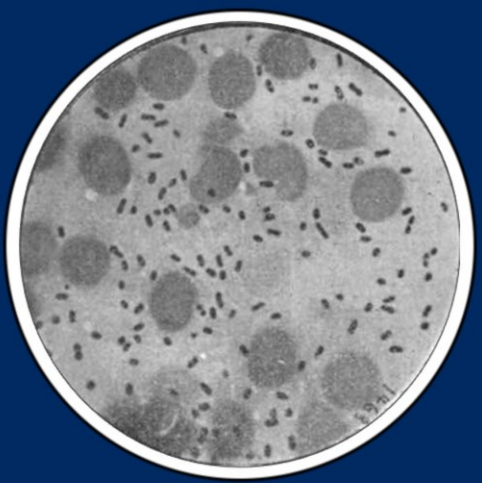
В.А. Горшков-Кантакузен

ОПЕРА О ЧУМЕ



Издательство Московского университета

В. А. Горшков-Кантакузен

Опера о чуме

Рекомендовано
Учёным советом ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» в качестве учебника для углублённого изучения студентами медицинских, биологических и ветеринарных высших учебных заведений, в качестве учебного пособия для слушателей курсов профессиональной подготовки по работе с возбудителями особо опасных инфекций

Издательство Московского университета
2024

УДК 616.9+579.6(075.8)
ББК 55.14 +28.487я73
Г70

РЕЦЕНЗЕНТЫ:

Андрей Павлович Анисимов — доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе, Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии (Оболенск)

Лев Григорьевич Брук — доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой общей химической технологии, Институт тонких химических технологий имени М. В. Ломоносова РТУ-МИРЭА

Анатолий Алексеевич Гусев — доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент Российской академии наук

Василий Анатольевич Логинов — доктор медицинских наук, профессор, член союза писателей России, факультет фундаментальной медицины, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова

Зуридин Шарипович Нурматов — доктор медицинских наук, Национальный институт общественного здоровья Министерства здравоохранения Кыргызской Республики

Александр Михайлович Семёнов — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, биологический факультет, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова

Виктор Васильевич Сунцов — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова Российской академии наук

Алексей Леонидович Трухачев — кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник, Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт

Владимир Петрович Чуланов — доктор медицинских наук, профессор, главный внештатный специалист по инфекционным болезням Минздрава России, заместитель директора по научной работе и инновационному развитию, Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний Министерства здравоохранения Российской Федерации

Горшков-Кантакузен, В. А.

Г70 Опера о чуме : учебник / В. А. Горшков-Кантакузен. — Москва : Издательство Московского университета, 2024. – 616, [2] с. : ил. – Электронное издание сетевого распространения.

ISBN 978-5-19-012018-9 (e-book)
ISBN 978-5-19-012017-2

В книге рассматривается чума — самая опасная бактериальная инфекция, вызвавшая три страшные пандемии в истории человечества. Автор предлагает посмотреть на известный предмет под другим углом: с точки зрения самой бактерии, являющейся примой в опере (ит. «деле») жизни, и её влияния на историю и культуру; с точки зрения судеб людей — героев и военных преступников. Книга включает большое количество иллюстраций и описания клинических случаев, поэтому адресована студентам медицинских вузов для углублённого изучения. Она также может быть использована студентами биологических и ветеринарных вузов, ординаторами, на курсах повышения квалификации врачей и в подготовке специалистов по работе с возбудителями особо опасных инфекций. Кроме того, язык изложения позволяет её рекомендовать всем, кто интересуется удивительно-опасным миром микроорганизмов, а также готовится к поступлению в вуз.

УДК 616.9+579.6(075.8)
ББК 55.14 +28.487я73

© В. А. Горшков-Кантакузен, 2024
© Издательство Московского университета, 2024

ISBN 978-5-19-012018-9 (e-book)
ISBN 978-5-19-012017-2

Оглавление

АКТ I

1. Unde origo 11
2. Скуола 23
3. Истории 30
4. Имена 58
5. Блоха Хеопса 72
6. Внутренний мир 83

АКТ II

7. Усидзима 105
8. Первичная лёгочная чума у собак 119
9. Pestis camelorum 125
10. Чума органов зрения 127
11. Чума органов пищеварения 132
12. Чума у приматов 134
13. Семьсот тридцать один 139
14. Первичная септическая чума 170
15. Первичная лёгочная чума 176
16. Механизмы и пути 185
17. Клиника 194
18. Клиника первичной септической чумы 205
19. Клиника первичной лёгочной чумы 211
20. Чумной менингит 217
21. Классификация 222
22. Диагностика 232
23. Лечение (болезнь жара рим) 242
24. Лечение 262
25. Резистентность 288
26. Профилактика 295

АКТ III

27. Форт 319
28. Костюм 349
29. Материал 357
30. Культура 365
31. Свойства 399

32. История одной обиды 418
33. Иммунохимия: антиген – антитело....428
34. Стивен 450
35. Антибиотикочувствительность 466
36. Молекулярно-генетические методы 479
37. Подведение итогов 495
38. Послесловие....508
Финал 516

Дополнительные материалы

Картографирование природных очагов....519
Краткие сведения о природных очагах стран СНГ....523
Краткие сведения о природных очагах Монголии 544
Краткие сведения о природных очагах Китая и Тибета....552
Краткие сведения о природных очагах других стран мира....558
Прописи (рецептуры) некоторых питательных сред,
применяемых для работы с возбудителем чумы 568
Методика определения аминного азота 576

Список литературы 577
Краткий алфавитный указатель....611

Ο γιατρός είναι φιλόσοφος *
Ιπποκράτης

Посвящается самым близким:
маме и брату

* греч. «врач есть философ». Гиппократ.

Автор выражает бесконечную благодарность
всем, кто, несмотря на существующие границы,
оказывал неоценимую помощь в создании этой книги,
особенно ***рецензентам*** *за их мудрые замечания и отзывчивость,*
а также врачу ***Ксении Валерьевне Хлоповой****, биологу* ***Татьяне Евгеньевне Арсеньевой****, профессору* ***Андрею Владимировичу Карлышеву****,*
профессору ***Уильяму Голдману****, биологу* ***Ирине Михайловне Песковой****,*
врачу ***Анне Эдуардовне Цыганковой****, врачу* ***Эльдару Ринатовичу Зулькарнееву****, врачам тибетской традиционной медицины* ***Дава Тсерингу*** *и* ***Сонам Вангмо****, археологу* ***Роману Александровичу Орехову****,*
культурологу ***Елене Витальевне Гордиенко****, историку* ***Марио По****,*
инженеру ***Александру Александровичу Рябову****, художнице* ***Анне Алексеевне Крюковой****, музейному куратору* ***Эндо Руми*** *и*
переводчице ***Накано Мисако*** *за помощь и консультации,*
художницам ***Алёне Радиковне Амировой*** *и*
Екатерине Владимировне Богдановой *(мастерская KotiaForge)*
за чудесные иллюстрации,
семье ***аль-Куайти****, семье* ***Жуперины*** *и* ***собственной семье***
за веру, поддержку и вдохновение

※

Автор также выражает бесконечную признательность
тем организациям, что на безвозмездной основе предоставили
материалы для этой книги

※

В случае возникновения вопросов и пожеланий, пожалуйста,
направляйте их на cantacuzenesopera@gmail.com

Говорят, что человеческая жизнь и знания берут начало в царстве небесного отца Рангину́и. По крайней мере, в это верят ма́ори, коренные жители Аотеаро́а (Новой Зеландии). Ещё они верят, что когда-то давно его сын, бог лесов Тане, поднялся в обитель Те Ти́хио-Ма́ноно, на самое высокое из двенадцати небес, которое называют Те Той-о-нга-ра́нги. Там он получил три корзины знаний и передал их людям: те кете-ту́атеа (корзина света) хранит уже открытые знания; те кете-ту́аури (корзина тьмы) хранит ещё не открытые знания; те кете-а́ронуи (корзина преследования) хранит те знания, к которым человек сейчас стремится.

Принято считать, что возбудители инфекционных болезней являются чем-то оторванным от обычной жизни. Их изучают как часть самостоятельного мира, отдельного от мира людей, в лучшем случае касающегося конкретного человека и, как правило, только во время болезни. Вместе с тем эти мельчайшие, не видимые невооружённым глазом «патогенные биологические агенты», коими мы их презрительно именуем с высоты своего величия, не одинокие скалы Фарерских островов. Они буквально создали всю окружающую нас реальность. Именно они кардинальным образом меняли ход всей человеческой истории, вселяя животный страх в «венец творения природы». Именно они истинные примы Ла Скала в опере жизни.

Эта опера (ит. «дело, труд»), вероятно, один из первых опытов рассмотрения возбудителей особо опасных бактериальных инфекций в рамках «мира людей», в рамках того, что мы называем нашей повседневностью: того, что есть и когда-то было. Автор приглашает каждого читающего взглянуть на привычный мир под другим углом и в связи с этим покорно просит, во-первых, читать эту книгу (а не учить или конспектировать), а во-вторых, – и это важно! – приложить максимум усилий, чтобы представлять то, о чём пойдёт повествование. Не так важно, какой уровень подготовки у вас имеется. Неважно, быстро вы соединяете сложный пазл информации в единую картину или медленно. Важно, чтобы вы пропустили напи-

санное через себя и прожили всё, о чём написано, поскольку медицина – не только наука, но и искусство, которому присущи изящество и романтика.

Отправляйтесь в это удивительное путешествие за «те кете-аронуи» с энтузиазмом Одиссея, бесстрашием воина маори, верой в свои силы и успех, а также упорством кота, что будит меня каждое утро, требуя дать ему еды.

AKT I

Monstra nigrantis





Базилика Санта-Мария-делла-Салюте в Венеции

1 UNDE ORIGO…

Под мраморные своды базилики Са́нта-Мария-де́лла-Салю́те, величественным стражем возвышающейся у самого входа в венецианский Гранд-канал, в Дорсоду́ро, отделяя противоположный берег с его карнавалами, его площадью Сан-Ма́рко и Пала́ццо Дука́ле, входит человек. Он одет в чёрное пальто, а в тёмно-русых волосах уже кое-где виднеется седина. На его тусклых карих глазах выжжен безумный вихрь времени. Он медленно идёт по мозаичному полу. Дойдя до композиции, изображающей цветы, окружающие медный диск, что в самой середине октаго́на, под куполом, над которым величественно возвышается Богоматерь в доспехах генерала моря[1], он медленно встаёт на колени и склоняется перед ним. На диске видна надпись: «Unde origo, inde salus»[2]. Словно молчаливый звон, пробуждаются в памяти события страшной эпидемии, бывшей в Светлейшей Республике[3] и унёсшей жизни многих её жителей. Причина установки на гладь укрощённых вод Адриатического моря опирающегося на гондолы моста, по которому каждый год 21 ноября, обручённый по древней традиции с морем дож Республики, истинный Владыка морей, идёт из своего великолепного дворца, чтобы в центре октагона так же смиренно склонить голову в благодарность за спасение. Кажется, что эти слова как символ героизма и мужества, вызова, брошенного самой смерти, кружатся в воздухе, заполняя пространство и устремляясь вверх под самый купол…

Эта болезнь сопровождает человечество на долгом историческом пути. Генетический материал её возбудителя обнаруживается даже в ископаемых останках 5000-летней давности, а упоминания о ней имеются уже в первых письменных памятниках. Несколько страшных пандемий и множество эпидемий были вызваны ею, оставив такой неизгладимый след в памяти человечества, что даже некоторые эпидемии, вызванные иными возбудителями, долгое

[1] Вен. «Capitano generale da Mar»; выборная должность главнокомандующего военно-морским флотом во время войны.

[2] Лат. «где исток, оттуда и [пришло] спасение».

[3] Одно из наименований независимой Венеции (Серени́ссима).

время приписывались именно ей. Она не щадила ни богачей, ни бедняков. Она не сгинула в небытии, подобно многим, и тень её величия до сего дня витает в воздухе, отражаясь от зданий в узких каналах под песни гондольеров, редчайшими вспышками вселяя ужас возможностью снова повергнуть в хаос привычный нам мир.

Имя её – чума.



Медный диск с надписью «Unde origo, inde salus»

* * *

Идёт 1629 год, и вот уже одиннадцать лет, как Республика участвует в Тридцатилетней войне. Венецианские войска отступают в северную и центральную Италию под натиском германской и французской армий. Они ещё не знают, что, спасая свои жизни, несут вглубь страны врага куда более страшного, чем порох и сталь, прихваченного ещё в городе Ма́нтуя. Уже к октябрю чума прибыла в город Мила́н. И хотя эффективные противоэпидемические мероприятия, включающие карантин, ограничение торговли и перемещения граждан, имели положительный эффект, их последующее поспешное смягчение ради проведения традиционных карнавалов в марте 1630 года привело к резкому ухудшению ситуации в виде новой вспышки заболевания. В результате погибло 60 000 человек, т. е. 61 % населения города. Эта история наглядно демонстрирует важный закон эпидемиологии: *нельзя торопиться в вопросах ослабления противоэпидемических мероприятий во время эпидемии*, особенно когда причиной является традиционный карнавал. Да, красиво, но для многих он стал тогда последним в жизни.

В том же году чума добралась и до Венеции, расположенной в 60 км к востоку. Но принесла её не армия, а посол мантуанского герцога Карла I Гонза́ги, чьё имя история не сохранила. Сначала его спешно изолировали на острове Лазаре́тто (о котором будет подробнее сказано далее), но, решив, что столь высокопоставленному человеку негоже пребывать в изоляции с простыми смертными, перевели в монастырь Сан-Клеме́нте, где специально возвели резиденцию. Строители были из района Дорсоду́ро, поэтому именно оттуда и началось распространение инфекции и поэтому именно там теперь стоит базилика Санта-Мария-делла-Салюте, построенная дожем Нико́ло Контари́ни как исполнение обета, торжественно данного Деве Марии Спасительнице (Салюте) на площади Сан-Марко перед её образом Никопе́и (Победительницы). Это был первый случай, когда дож публично снял свой головной убор [1]. Unde origo, inde salus[2].

[1] Традиционный головной убор, аналог короны; в пер. с вен. zoia – «драгоценный камень». Представлял собой высокий колпак с рогом на задней части, украшенный драгоценными камнями. По свидетельству современников, «красота и размер по-

Эпидемия бушевала год, унеся жизни 46 ооо человек (33% населения города), что, учитывая очень компактное расположение и высокую плотность населения, было, без преувеличения, самым низким показателем в Европе при том, что эта эпидемия чумы стала, пожалуй, самой большой на итальянском полуострове, унеся более миллиона жизней. Такой успех противодействия инфекции явился результатом возникшей и развившейся в Венеции уникальной системы санитарно-эпидемиологических мероприятий, настолько грандиозной, что отдельные её элементы используются поныне.

Как центр международной торговли, компактно расположившийся на островах, Венецианская республика была достаточно уязвима для инфекционных заболеваний, однако Служба здравоохранения Республики достаточно быстро поняла: единственный способ защитить город (и, соответственно, бизнес) – это разделить людей на здоровых и больных. Последних изолировали, относя к ним подозрительных, контактных и заражённых. Уже на заре XV века, в 1423 году, для изоляции заболевших чумой использовали небольшой остров Лазаретто (Lazaretto), на котором с 1249 года стоит храм Святой Марии из Назаре́та, что, по-видимому, и дало название острову (Nazaretum-Nazaretto в простонародье стало Lazaretto). С другой стороны, остров мог получить своё название от Святого Лазаря, которого считали своим покровителем братья одноимённого ордена, занимающиеся попечением о болящих. На острове находилась первая больница для *appestati* (жертв чумы), в которой размещали больных и работали так называемые «чумные» доктора. Однако они редко являлись докторами по образованию, но чаще были аптекарями (фармацевтами), имеющими право на лечение больных чумой. Эта система была повсеместно распространена в Европе и связана в первую очередь с экономической и физической сложностью обучения и сертификации врачей. Вспомнить хотя бы

зволяли рассматривать [её] как важнейшую часть казны». По традиции дож должен был носить головной убор постоянно.

[2] Символизм происходящего заключается ещё и в том, что Мария выступает причиной существования самой Венеции как духовно «зачатой» в тот же день, что и Сын Божий (считается, что город был основан 25 марта, то есть в день, когда отмечается зачатие Иисуса Христа). Именно поэтому диск с надписью располагается чётко под статуей Марии, которая облачена в доспехи главнокомандующего, возглавляющего Венецию в битвах с врагами, эпидемиями и злом.

Анатомический акт, принятый английским парламентом в 1832 году, который позволил вскрытие и исследование трупов для анатомических целей. Именно благодаря ему уже в 1858 году мир увидел знаменитый учебник по анатомии Генри Грея, проиллюстрированный Ге́нри Ванда́йк Ка́ртером, который к настоящему времени выдержал уже более 40 изданий и воспитал много поколений прекрасных врачей[1]. Справедливости ради стоит отметить, что аптекарей не использовали как «более дешёвый ресурс», наоборот, «чумное» занятие было добровольным и достаточно прибыльным. Здание, в котором лечили больных, по названию острова стали называть «лазарет», что и дало название другим подобным заведениям. Для переболевших, а также тех, кто только контактировал с заболевшими, обустроили другой остров, который носит название Лазаретто-Нуо́во. С появлением «нового» острова «старый» стали именовать Лазаретто-Векью́, и под такими названиями они существуют и поныне, хотя уже и не используются по назначению.

[1] До этого вскрытие трупов было строго запрещено, но вместе с тем требовалось для получения лицензии врача (хирурга), для чего Королевской коллегии хирургов (The Royal College of Surgeons) ежегодно выдавалось только 4 трупа казнённых преступников. Тут будет уместным упомянуть, что ограничения на вскрытие трупов неизбежно приводили к кражам «свежих» трупов из могил (а нередко и убийствам!), поэтому с целью предотвращения краж к 1816 году в Англии были изобретены мортсейфы (англ. mortsafe) – приспособления, чаще в виде массивных решёток с навесным замком, преграждающие доступ к могиле. Как правило, снимались через 5–6 месяцев, когда труп уже разложился достаточно, чтобы быть непригодным для анатомического вскрытия. Справедливости ради заметим, что врачи того времени не занимались похищением трупов и уж тем более убийствами, но, как говорится, спрос рождает предложение. Самих похитителей, которые не гнушались и банальным мародёрством, называли «ресуррекционисты» (англ. resurrectionists, resurrection-men), т. е. «воскрешатели», в ироничном значении, конечно же. Упомянем также, что мортсейф не является чисто английским изобретением. Так, в Кафедральном соборе города Кёльн в Германии находим могилу единственного светского аристократа, похороненного в Соборе, – графа Готфрида фон Арнсберга. Саркофаг 1371 года, выполненный из песчаника, покрыт массивной решёткой, которая, согласно преданию, защищает могилу графа от его родственников, разочарованных тем обстоятельством, что граф завещал свои владения Кёльнской архиепископии. Сложно сказать какие отношения были у графа с родственниками, но пока последние тщетно пытались разрушить саркофаг, жители Арнсберга до сего дня приносят цветы к его могиле. К слову, сам граф изображён в рыцарских доспехах, а у его ног навеки застыл верный пёс, отношения с которым, по-видимому, были значительно лучше, чем с родственниками.

Чтобы оценить эффективность разделения больных и здоровых, вспомним известного врача Мишéля де Нострадáма (Нострадáмуса)[1], боровшегося с эпидемией чумы 1546 года в Экс-ан-Провáнсе (юго-восток Франции). Наиболее эффективной мерой он считал именно быстрое удаление тел умерших (чтобы болезнь не «переходила» от одного заболевшего к другому) наравне с обеспечением больных свежим воздухом и обильным питьём. Кроме того, практиковал пероральный прием настоя из лепестков роз. И в этом есть определённая логика. Дело в том, что лепестки роз обладают антибиотической активностью. Проведённый опыт[2] показал, что антибиотическая активность экстрактов из лепестков роз (*Rosa damascena*) зависит от цвета лепестков и вида микроорганизма. Наиболее чувствительным является *Micrococcus luteus*, однако чувствительность к экстрактам из красных и жёлтых лепестков выше, чем к экстрактам из белых. *Bacillus subtilis* наименее чувствителен ко всем экстрактам. Проводимые Нострадамусом мероприятия были настолько эффективны, что в благодарность за них ему назначили пожизненную пенсию.

Тут следует отметить, что сама идея возможности «перехода» заболевания от больного к здоровому, по-видимому, принадлежит ещё врачу Григóрису[3], жившему в Киликийской Армении в XII–XIII веках. Григорис пришёл к выводу, что некоторые болезни могут передаваться тремя путями: при непосредственном контакте с больным; при употреблении предметов, уже бывших в употреблении больным (т. е. контактно-бытовым путём); и при нахождении в одной комнате с больным (т. е. воздушно-капельным путём). Эти прогрессивные идеи стали достоянием европейской науки только в XVI веке благодаря трудам знаменитого врача Джирóламо Фракастóро[4], который, развивая идеи Григориса, в 1546 году предполо-

[1] Michel de Notredame, 1503–1566; французский врач, фармацевт, поэт, астролог, прорицатель и алхимик.

[2] Zhang W., Abdel-Rahman F. H., et al. Natural resistance of rose petals to microbial attack. J Environ Sci Health B. 2011; 46(5):381–93; DOI: 10.1080/03601234.2011.572502. Здесь и далее при упоминании важного открытия или опыта будет приведена ссылка на соответствующую публикацию, чтобы каждый при желании мог с ней ознакомиться. Для удобства восприятия она приводится другим шрифтом.

[3] Գրիգորիս; армянский врач. Автор трактата «Анализ природы человека и его недугов».

[4] Girolamo Fracastoro (Fracastorus), 1478–1553; венецианский врач и писатель.

жил, что эпидемии вызываются и распространяются крошечными «контагиями»[1] (правда, он их воспринимал больше как химические элементы, чем живые существа). Именно ему принадлежит введение в медицину термина «инфекция». К сожалению (а может быть, к счастью), Фракасторо не дожил до очередной эпидемии чумы буквально 22 года, чтобы своими глазами увидеть истинность своих идей. История не сохранила для нас доказательств того, знаком ли был Нострадамус с идеями Григориса (скорее всего, нет) и имел ли общение с Фракасторо (примечательно, что его труд о «контагиях» был опубликован в год печальных событий в Экс-ан-Провансе), но догадки этих трёх врачей доказывают, что мысль о контактном заражении уже «летала в воздухе», став катализатором важного противоэпидемического мероприятия – *изоляции больных*.

С начала XV века, памятуя обо всех случавшихся эпидемиях (в том числе завезённых генуэзскими моряками), венецианцы, боясь завоза и распространения новых, требовали перед заходом в порт продолжительной стоянки кораблей – ровно 40 дней. Этот период носил чисто религиозный характер и являлся напоминанием об искушениях Иисуса Христа в пустыне. И хотя обозначенный срок не имел никакого медицинского и эпидемиологического обоснования, надо понимать, что все эти эффективные (и кажущиеся современному человеку логичными и простыми) противоэпидемические мероприятия были внедрены до того, как человечество пришло к осознанию механизмов распространения инфекций и понятию инкубационного периода, то есть были предвидены интуитивно ещё до появления научной базы. Ибн Си́на[2], больше известный под именем Авице́нна, за пять столетий до венецианцев использовал

---

[1] Наряду с этой существовала теория о «миазмах» (др.-греч. μίασμα – «загрязнение, скверна»), т. е. о «заразительных началах», являющихся испарениями процессов гниения и иных нечистот (например, испарения болот). Проникая в воздух, эти испарения вдыхаются человеком и вызывают болезни. Со времен Гиппократа, Галена и ибн Сины (Авиценны) и вплоть до открытия микроорганизмов эта теория была наиболее распространённой, а обоснованное ею строительство канализационных систем только способствовало её утверждению. Стоит отметить, что существование этой теории способствовало появлению масок у «чумных докторов», в клювы которых вкладывались травы и вата, т. е. осуществлялась защита органов дыхания.

[2] ابن سينا, 980–1037; персидский врач и философ, автор громадного количества работ, среди которых медицинская энциклопедия «Канон медицины», использовавшаяся в университетах вплоть до 1650 года.

карантинные мероприятия, но именно тут изоляцию стали называть quaranta giorni (венец. «сорок дней»), благодаря чему и появилось такое привычное современному человеку слово, как «карантин».

К сожалению, изоляция в «мирное время» была достаточно условной: за определённую плату можно было отправиться в сорокадневное «путешествие» по материку или весело провести время в объятиях куртизанок, упиваться ромом, орать песни, подраться с матросами иных экипажей, искалечив друг друга, на небольшом острове Пове́лья (где и осуществляли стоянку корабли) площадью всего 0,075 км², что расположился в 600 м к западу от острова Лидо. Если рано утром, пройдя по узким улочкам Венеции мимо церкви Сан-Джо́рджио-де́и-Гре́чи, центра церковной жизни греческой общины, выйти на набережную Ри́ва-де́льи-Скьяво́ни, то, обратившись взор к востоку, можно видеть, как медленно и величественно из-за моря поднимается солнце, озаряя Лидо, который, кажется, выплывает из моря. И если после этого пересечь на вапоре́тто[1] канал Сан-Ма́рко и подняться на кампани́лу[2] базилики Сан-Джо́рджио-Маджо́ре, величаво возвышающуюся над одноимённым островом, то можно увидеть весь Лидо, залитый светом утреннего солнца, славящийся своими пляжами из мелкого золотистого песка и старейшим международным кинофестивалем, проводимым ежегодно начиная с 1934 года по инициативе печально известного диктатора Бенито Муссолини.

Возможно именно «обслуживание» «веселья» острова Повелья привело к появлению знаменитого моста По́нте-де́лле-Те́тте (букв. «мост сисек»), расположившегося в самом центре Венеции. Нетипичное расположение оконных ставней в домах с обеих сторон от которого до сих пор напоминает пилигримам о временах, когда местные дамы выставляли в них свои груди, дабы напомнить юношам о прелестях женского тела (говорят, что таким способом была ликвидирована «эпидемия юношеского гомосексуализма» в XVI веке, причём весьма успешно). Недалеко от этого моста и сегодня

[1] Речной трамвайчик, основной вид общественного транспорта в Венеции.

[2] Ит. campanile – колокольня, квадратная (реже круглая) в основании, как правило, стоящая обособленно от основного здания храма; характерно для итальянской архитектуры Средних веков и Возрождения.

усталый путник может отобедать в тратториях Alla busa (вен. «в дырке») и Antiche Carampane (вен. «старая кошёлка»), напоминающих о былой «профессии» жительниц этого места.

Те же, кто был вынужден проводить карантин на корабле, заболев, чаще всего умирали от голода, а корабли, гружёные товарами и трупами, сжигались. Надо понимать, что «бизнес» на Повелья был нелегальным и расцвёл ради прибыли. И именно это сыграло злую шутку с Венецией. Во время эпидемии чумы именно с Повелья болезнь попала на основные острова лагуны, передаваясь как от куртизанок, так и от гондольеров, что нелегально доставляли их на Повелья, унеся сотни жизней. На самом Повелья «веселье» также стихло, больные были переправлены на Лазаретто, а остров превратился в один большой погребальный костёр. Говорят, что по нему до сих пор бродят души умерших в поисках последнего пристанища…

Говоря о сорокадневном карантине в Венеции, нельзя не вспомнить о похожих мероприятиях, проводимых в Англии в XVII веке. По-видимому, успешный опыт венецианцев, несмотря на все минусы, способствовал распространению «карантинной традиции». Так, о смерти кого-либо в Лондоне извещал колокол, становившийся сигналом для человека экстравагантной профессии – искателя смерти. В его обязанности входило найти дом, в котором умер человек, и осмотреть труп. В случае выявления чумы (по-видимому, по наличию характерного бубона, хотя данный метод диагностики нельзя считать специфичным из-за сложностей дифференцировки, например, с бубонной формой туляремии, гнойным лимфаденитом и даже вторичным сифилисом, а также из-за возможности «проглядеть» лёгочную форму чумы) дом с его обитателями закрывался на сорокадневный карантин, двери отмечались красным крестом с надписью «O Lord, have mercy on us»[1], и около дверей ставился караульный, следящий за строгостью соблюдения карантина. Однако люди есть люди, и искатели смерти, которыми чаще всего были малообразованные старушки, за определённую сумму денег могли официально объявить иную причину смерти, дабы жители дома избежали карантина. Всё это вылилось в то, что история име-

[1] Англ. «Господи, помилуй нас».

нует Великой эпидемией чумы в Лондоне (1665–1666), унёсшей жизни порядка 100 000 человек (или 20% населения города).

Таким образом, обе эти истории напоминают нам об ещё одном важном законе эпидемиологии: *нельзя пренебрегать противоэпидемическими мероприятиями даже в «мирное время»*.

Вместе с тем будет нечестным по отношению к чумному микробу не упомянуть о его положительном влиянии на человечество. Так, ввиду сложной эпидемиологической обстановки уже осенью 1665 года прекращаются занятия в Тринити-колледже Кембриджского университета, вынудив одного 23-летнего юношу отправиться домой, в Усадьбу Вулсторп (графство Линкольншир, Англия). Там, в уединении, вероятно, от скуки он разложит белый цвет на спектры, откроет закон всемирного тяготения, а также выведет основную теорему анализа. В историю он войдёт как величайший математик и отец классической физики сэр Исаак Ньютон. Впоследствии про своё «чумное» уединение он напишет: «…В это время я переживал лучшую пору своей юности».

Через несколько лет после этого, в 1679 году, чума бушевала в австрийском городе Вене. Несмотря на то, что расположившийся на Дунае город был важным перекрёстком торговых путей Европы и Азии, гигиеническая ситуация в нём была ненормальной даже для того времени: зловонные кучи мусора ввиду отсутствия общественных коллекторов и дренажных систем, склады тканей и зерна, в которых успешно плодились крысы… Немудрено, что эта среда оказалась весьма благоприятной для чумы, забравшей в свой венский вальс порядка 76 тысяч жителей, из-за чего во многих частях Европы за ней надолго закрепилось название «венской смерти».

Помощь населению оказывало братство Святой Троицы, которое строило больницы, предлагая в них лечение рвотными настоями и кровопусканием. Впрочем, о роли братств во время эпидемий чумы мы поговорим в следующей главе, а тут лишь укажем, что действительно эффективной мерой во время этой эпидемии был вывоз трупов на окраины города, где они сваливались в большие ямы для сжигания. Однако тут они подолгу оставались на открытом воздухе, становясь лёгкой добычей местных крыс.



Сцена погребения во время Великой эпидемии чумы в Лондоне. Фрагмент одной из серебряных кружек (1675/76), заказанных в качестве подарка друзьям сэра Эдмунда Бе́рри Го́дфри, которому было пожаловано рыцарское звание в знак признания его заслуг перед городом (надпись: «Милостью Бога и Короля Карла II / то, что было чумой для других, для него было здоровьем» / EBG 1665). Хранится в Метропо́литен-музее

С одной из таких ям связана легенда, ставшая основой народной песни «Ach, du lieber Augustin» (нем. «Ах, мой милый Августи́н»). Известный своим пристрастием к алкоголю городской певец Августин, будучи не слишком трезвым, свалился в канаву и заснул. Проезжавший мимо патруль, приняв его за одну из жертв чумы, бросил несчастного Августина в одну из чумных ям, где, проспавшись до утра, он умудрился не заразиться. Пиво спасло его от заражения! Несмотря на это, Августин умер от алкогольного отравления 11 марта 1685 года в возрасте 35 лет, о чём свидетельствует запись в церковной книге.

История Августина стала настолько известной, что в честь него назвали многие питейные заведения и гостиницы в самой Вене, а в 1770 году мелодию песни вызванивали куранты Спасской башни Московского кремля, правда, недолго. В том же году чума пришла в Москву. В ту пору архиепископом Московским был Амвро́сий (Зе́ртис-Каме́нский), который, боясь распространения инфекции

из-за скопления народа у Боголюбской иконы Божьей Матери, повелел запретить к ней паломничества (в народе быстрее чумы распространялось поверье, что только многолюдными молебнами можно остановить «моровую язву»). Данное действие привело к тому, что после колокольного звона 15 сентября 1771 года несколько тысяч «истинно верующих» людей, вооружённых дубинками, топорами, камнями и кольями, с криками «Богородицу грабят!» разграбили Чу́дов монастырь. На следующий день был разграблен и Донской монастырь, в котором обезумевшая толпа, схватив 62-летнего архиепископа, уже за стенами монастыря устроила ему допрос с пристрастием, от которого он и скончался. Очевидно, что описанные события только ухудшили ситуацию в городе, в котором и так уже умирало больше тысячи человек в сутки, поскольку почти год о сложной эпидемической ситуации замалчивалось на всех уровнях (от фабрики, где она началась, до городских властей), а брошенные на ликвидацию подлекари и студенты, по воспоминаниям Дании́ла Само́йловича Самойло́вича-Сущи́нского [1] (также избитого толпой до полусмерти), «испытывали ужасные страдания и в большинстве гибли».

Таким образом, важно помнить, что первейшим противоэпидемическим мероприятием должно быть разъяснение жизненной необходимости их применения гражданам, а в идеале – создание той модели начального и среднего образования, при которой у граждан не будет возникать сомнений в необходимости проведения карантинных мероприятий во время эпидемий. Вместе с тем многих людей, помимо страха смерти, сводит с ума ещё и ощущение бессмысленно уходящего времени. Как проницательно подметил в своём труде «Истории Флорентийского собора» митрополит Дорофе́й Митили́нский: «Смертоносная бубонная чума накрыла Ферра́ру, и город плакал о безвременно ушедших жизнях; нас охватил малодушный страх смерти, а скорбь от грозящей гибели едва не свела нас с ума».

[1] 1744–1805; украинский военный врач. Доказал возможность контактного заражения чумой.

2 СКУОЛА

Солнце клонится к закату, уступая место вечернему сумраку. Из мраморного здания эпохи Возрождения, украшенного коринфскими пилястрами и статуями, выходят люди в белых туниках и, величественно пройдя по площади, заходят в базилику, именуемую Сан-Занипóло (вен. «святых Иоанна и Павла»). Это большое здание из красного кирпича, выполненное в традиционном для города готическом стиле, мало чем отличается от других той эпохи: два вертикальных пилястра делят его на три части, где в центральной, прямо над арочным входом, украшенным колоннами, возвышается большое круглое окно-роза, а по бокам симметрично расположились окна поменьше. Вершину фасада венчают три остроугольных свода. И нет ничего особо примечательного в фасаде и интерьере, есть только саркофаги тех, кто нашёл в ней свой последний приют. Именно этой базилике выпала честь стать пристанищем для многих дожей и знаменитых горожан, а сейчас в неё идут члены старинного врачебного братства, чтобы помолиться и, выйдя, делать свою работу, уже, быть может, никогда не вернувшись в неё снова живыми.

Как невозможно говорить о чуме, не упомянув Венецию, так невозможно и говорить о Венеции, не упомянув это братство – Великую скуóлу святого Марка (Scuola Grande di San Marco). Будучи культурным детищем восточной части Римской империи, Венеция впитала в себя не только элементы архитектурного стиля, отпечаток которого до сих пор несут на себе многие строения, но и лучшие достижения ромейской («византийской») медицины, основанной на трудах великих врачей прошлого. Сама концепция, существенно отличающаяся от европейской, предполагает, что в каждом крупном городе и монастыре имеются учреждения, в которых вне зависимости от национальности, пола, социального положения и профессии любому больному человеку будет оказана не только медицинская помощь, но предоставлены одежда и питание. В больнице есть главный врач, его заместители, администраторы и штатные врачи различных специальностей, причём как мужчины, так и женщины. Отдельно стоит упомянуть комплекс «Прибежи-

ще» (370 год), который, помимо больницы, включал в себя гостиницу для малоимущих иногородних граждан, дом престарелых, лепрозорий, приют для бедных и учебное заведение, в котором, находясь на лечении, можно было освоить новую профессию. Именно эта идея, организационно очень похожая на современную медицину, нашла своё отражение в Венеции. В первую очередь необходимо отметить перенесение такого уникального явления, как скуола, которое из Византии хотя и «проникло» в раз личные страны, но прижилось и дошло до наших дней только в Венеции.

Скуóла – это благотворительное общество граждан (братство), объединённых под покровительством какого-нибудь святого. И хотя члены скуол совершали совместные молитвы, посещали богослужения, сами скуолы не являлись частью церковного аппарата и существовали независимо от церкви. Возможно, именно поэтому они играли большую роль в социальной и даже политической жизни Республики. Великая скуола святого Марка была основана в 1261 году, явившись первым в мире профессиональным объединением врачей. Как и все другие Великие скуолы, она была закрыта Наполеоном I Бонапартом в 1807 году; здание в 1819 году было переоборудовано под австрийский госпиталь, а имущество, большая часть которого состояла из картин (именно скуолы были главными работодателями многих художников, среди которых встречаются такие знаменитые, как Тинторетто, Беллини, Микеланджело), передано в галереи Франции и Австрии, хотя некоторые полотна всё же через некоторое время были возвращены в Венецию.

Великая скуола святого Марка интересует нас в первую очередь потому, что она сыграла большую роль во время эпидемии чумы (причём как уже упомянутой, так и бывшей на сто лет ранее). Пожалуй, это были первые случаи, когда борьбу с чумой вели именно врачи, которые, помимо эффективных противоэпидемических мероприятий (о которых мы уже говорили), осуществляли и хирургические, заключавшиеся во вскрытии бубонов (конгломератов из слитых с кожей лимфатических узлов), в то время как «обычные» чумные доктора их только прижигали и следили за наличием пуль-

Процессия членов Великой скуолы святого Марка ►



са, да и то посредством длинной трости, чтобы избежать контакта. Конечно, дистанционный осмотр позволял снизить риск заражения, однако никак не помогал больному, поскольку прижигание не давало выхода содержимого бубона наружу, но способствовало его разрушению внутри организма. Вскрытие же, наоборот, хотя и в разы повышало риск инфицирования для врача, по-видимому, было эффективной процедурой[1], снижающей содержание возбудителя в организме, так как в бубоне происходит обильное размножение возбудителя и, следовательно, содержится достаточное его количество, готовое нарушить защитную функцию конгломерата и мигрировать в кровоток, чтобы разнестись кровью по всему организму. Справедливости ради отметим, что высвобожденное из вскрытого бубона содержимое серьёзно повышает риск аэрогенного заражения и, как следствие, распространения уже лёгочной формы чумы, учитывая, что чумной аэрозоль способен «висеть в воздухе» помещения несколько часов, не говоря уже о возможности заражения самого врача, осуществляющего процедуру, однако этот метод в разы повышал шансы пациента на выздоровление.

Бытует мнение, что последний свой приют заразившиеся герои обрели в подземной крипте церкви Сан-Симео́не Пи́кколо, куда их перенесли уже после эпидемии и снятия карантина. Замурованные в крипте, они изолированы от земли и воды. На входе в «чумную» часть крипты до сего дня имеется аллегорическое изображение смерти в виде скелета и надписи: «Memorare novissima tua et in eternun non peccabis»[2] и «Miseremini mei miseremini mei»[3], отзываясь в исторической памяти только одним девизом – «Memento mori»[4].

---

[1] Так, О. И. Бронштейн в начале прошлого века писал об эффективности данной процедуры.

[2] Лат. «Помни о конце твоём, и не согрешишь»; фрагмент стиха из Книги Премудрости Иисуса, сына Сира́хова: «Omnibus operibus tuis memorare novissima tua, et in aeternum non peccabis» (лат. «Во всех делах твоих помни о конце твоём, и не согрешишь»; Сир. 7:39).

[3] Лат. «Помилуйте меня, помилуйте меня»; фрагмент стиха из Книги Иова: «Miseremini mei miseremini mei saltim vos amici mei quia manus Domini tetigit me» (лат. «Помилуйте меня, помилуйте меня вы, друзья мои, ибо рука Божья коснулась меня»; Иов 19:21).

[4] Лат. «Помни о смерти». Примечательно, что данный девиз пришёл из Древнего Рима, где во время триумфального шествия полководца специальный раб, стоящий за спиной, с определённой периодичностью напоминал полководцу, что он, несмотря на всю славу и величие, всего лишь смертный. Эта традиция сохранилась и



Фреска с изображением смерти в крипте церкви Сан-Симеоне Пикколо

во времена Восточной римской империи, где уже специально назначенный министр говорил её Императору.

Они вышли тогда, чтобы впервые в мировой истории дать отпор самому страшному врагу. Конечно, нельзя умалять заслуги отдельных врачей, как, например, уже упомянутых Мишеля де Нострадама и Григориса, но борьба братьев Великой скуолы святого Марка отличается тем, что это было не исключение из правил, когда один какой-то врач решал помочь «чумным» докторам, а слаженная работа фактически первой системы здравоохранения инфекционного профиля. И эти люди, чьих имён мы даже не знаем, воплотили в жизнь старинный принцип aliis inserviendo consumor[1].

Другим важным введением было обязательное мытьё рук с мылом и их дезинфекция уксусом (особенно для врачей!). Конечно, говорить, что гигиена была чем-то новым для Венеции, нельзя, так как учение о гигиене было частью культурного наследия Римской империи, однако если рассматривать опыт Венеции в контексте общеевропейского (вспомнить хотя бы тот факт, что одним из основоположников асептики был Игнац Филипп Зе́ммельвайс [2], живший в середине XIX века), то гигиена и асептика также внесли важный вклад в победу над чумой.

Говоря о гигиене, нельзя не перенестись ненадолго в Баварию конца XIX века, где президент Баварской академии наук Макс фон Петтенко́фер[3], оценивая, правда, кривые не чумы, а эпидемий тифа и холеры и видя их тождественность с кривыми колебаний подпочвенных вод, выдвинул достаточно интересную теорию, названную локалистической, почвенной (Grundwassertheorie), согласно которой, наряду с возбудителем, не меньшее, если не сказать большее, значение в эпидемическом процессе играют физико-химические и органические особенности почвы и почвенных вод (то есть выступал противником теории Ро́берта Ко́ха[4] об исключительной роли воз-

[1] Лат. «Служа другим, расточаю себя»; в русский язык вошло как «Светя другим, сгораю сам».

[2] Ignaz Philipp Semmelweis, 1818–1865; венгерский врач, акушер, профессор Будапештского университета.

[3] Max von Pettenkofer, 1818–1901; германский химик и врач, гигиенист, основатель первого в Европе Института гигиены (Мюнхен).

[4] Robert Koch, 1843–1910; германский врач, бактериолог. Член Прусской академии наук. Лауреат Нобелевской премии по физиологии и медицине (1905). Выделил и культивировал вне организма возбудитель сибирской язвы, открыл возбудитель туберкулёза. Адаптировал в 1877 году постулаты, сформулированные немецким патологоанатомом Фридрихом Густавом Якобом Генле (1809–1885), которые впоследствии были названы постулатами Генле – Коха (Henle – Koch Postulates).

будителя). В доказательство своей теории утром 7 октября 1892 года, в свои 73 года, Макс фон Петтенко́фер даже выпил перед Кохом и другими свидетелями холерные вибрионы, имея при этом удачливость не заболеть![1] Теория просуществовала долго, и, хотя оказалась ошибочной, оказала огромное влияние на развитие санитарно-гигиенических мероприятий, в первую очередь, улучшение водоснабжения и канализационной системы, сделав Мюнхен того времени одним из самых чистых, эпидемиологически благополучных городов мира. Многие его ученики, среди которых следует выделить Фёдора Фёдоровича Эрисма́на[2], распространили учение о гигиене по всему миру.

Тут будет справедливым снова упомянуть врача Даниила Самойловича Самойло́вича-Сущинского, который доказал, что «чумная зараза» может передаваться через инструменты врача, вскрывающего бубоны, поскольку «хотя [я] очищал от гноя свои биструи и ланцеты, но, так как они нужны были мне каждую минуту, я их всегда имел при себе. Отсюда легко заключить, что я не только всегда имел дело с чумным ядом, но что яд этот всегда был в моих карманах». Он же, установив, что «дважды чумой не болеют», предположил возможность вакцинации и совместно с Кассиа́ном Иосифовичем Ягельским[3] использовал дым от порошка, разработанного последним, чтобы окуривать жилища, больницы и общественные здания, что сыграло определённую роль в ликвидации эпидемии чумы в Москве[4].

Всё это приводит нас к ещё одному закону эпидемиологии (эпидемиологической триаде): *распространение инфекции прекращается при разрушении хотя бы одного звена цепочки «возбудитель – пере-*

---

[1] Вероятно ассистенты дали ему не токсигенный штамм.

[2] Friedrich Huldreich Erismann, 1842–1915; швейцарский и российский врач, гигиенист. Основатель учения о школьной гигиене.

[3] 1736–1774; российский врач, один из основателей эпидемиологии в Российской империи.

[4] Следует отметить, что окуривание долгое время оставалось единственным эффективным средством в борьбе с чумой. Так, ещё в 1812 году во время эпидемии чумы в городе Одессе производилось окуривание по методу французского химика Луи́ Бернара Гито́на де Мо́рво (1737–1816), включающее использование «кислосольного окисленного газа», состоящего из 3 частей поваренной соли, 1 части чёрного марганца (оксид марганца) и 2 частей серной кислоты. Несложно догадаться, что выделяемым в результате реакции газом является хлор.

носчик – восприимчивый организм» (как показывает практика, большую роль в возникновении, например, нозокомиальных («внутрибольничных», госпитальных) инфекций играет пренебрежение правилами гигиены медицинским персоналом, разносящим инфекции «на руках»).

После победы над эпидемией чумы в Венеции в 1631 году, нанёсшей долговременный ущерб численности населения и сыгравшей основную роль в снижении уровня экономики, была построена уже упомянутая церковь Санта-Мария-делла-Салюте, ставшая впоследствии малой папской базиликой. Большую финансовую помощь в строительстве оказали братья скуолы, почтившие таким образом память своих павших собратьев. До сих пор в ней и в здании капитула скуолы можно видеть удивительные полотна работы Доменико Тинторетто, члена скуолы (с 1585 года) и участника тех событий, обретшего последний приют в крипте готической церкви Мадонна-дель-Орто 17 мая 1635 года.

3 ИСТОРИИ

I

– Чем я буду их кормить? – спрашивал император Юстиниан, стоя на балконе своего дворца, устремляя взгляд в Босфор. Вот уже 10 лет он правит самой большой империей цивилизованного мира. Аламанский, Готский, Франкский, Германский, Антский, Ланский, Вандальский, Африканский – это всё было про него. Именно он превзошёл Соломона, построив самую великолепную базилику в истории. Полководец и реформатор. Великий. А теперь ему просто нечем кормить подданных. Ещё недавно казалось, что самым страшным событием его жизни было восстание, получившее название «Ника», а теперь…

Года 535 и 536 выдались необычайно холодными. Прокóпий Кесарúйский в своей четвёртой книге «Истории войн» пишет: «Весь год солнце испускало свет подобно луне, без лучей, как будто оно теряло свою силу, перестав, как прежде, чисто и ярко сиять». Говорят, что причиной этого могли стать извержения вулканов или падение метеорита, а быть может, жестокость, с которой было подавлено восстание, кто знает. Но урожая нет и людям нечего есть.

В это же время на другом краю цивилизованного мира, на территории современного Йемена, короли Аксýма и Химья́ра, только что оправившиеся от неизвестной болезни, что стала причиной смерти многих их подданных, думают, как им жить дальше, когда торговли долго не было и казна пуста. Но земля плодоносит и даёт щедрый урожай пшеницы, которая едет в Египет, и кажется, что жизнь продолжается. Там из больших зернохранилищ города Пелýсий, который сами египтяне называют Пер Амýн, пшеница отправляется в столицу, славный Константинополь, где его изголодавшиеся жители ждут её подобно тому, как древние евреи в пустыне ждали от Бога манну. Но, в отличие от манны, этот груз не принесёт радостного насыщения, ибо пока корабль с пшеницей ещё мирно качается на волнах, в Пелусии уже первый житель, укушенный то ли крысой, то ли блохой, умирает от сепсиса, можно сказать, сгорает без видимых на то причин. И это событие станет отправной точкой для первой из трёх пандемий чумы[1].

За период с 532 по 580 года болезнь охватила множество стран, путешествуя по миру в двух направлениях: в восточном – через Палестину в Азию, и в западном – через Александрию в Африку, чтобы снова прийти на Аравийский полуостров и сделать из него землю песков и бедуинов. Из-за продолжающейся эпидемии стало невозможным поддержание работоспособности системы ирригации, что привело не только к гибели урожая, но и потере большей

[1] Конечно, в китайских рукописях того времени описана крупная эпидемия чумы, охватившая весь Китай в 468 году, однако отправной точкой «глобального путешествия» стал именно город Константинополь, куда возбудитель прибыл из Египта. Путь, по которому чумной микроб попал в Египет, до сих пор остаётся предметом многочисленных споров. Одни считают, что он прибыл из Нубийской пустыни, другие – из Китая, Тибета или севера Индии. Так или иначе, генетические исследования показывают, что во время первой пандемии циркулировало множество штаммов, поэтому вполне возможно, что первоисточников было несколько.

части плодородных земель. Не имея достаточного количества пищи, местные жители были вынуждены развивать торговлю (тем более что ладан из Хадрама́ута ценился в то время выше золота). Именно здесь, среди караванов гружёных товарами верблюдов, родится пророк Муха́ммад.

Плохо зная географию и не проработав детально маршрут своего путешествия, чума шла торговыми путями: переходя от прибрежных областей вглубь континентов, она достигла своего пика на территории современных Греции, Италии и Франции (541–545) и завершила путешествие в Англии и Ирландии (683), унеся жизни около 100 миллионов человек.

Уже упомянутый Прокопий Кесарийский писал: «От неё не было человеку спасения, где бы он ни жил — ни на острове, ни в пещере, ни на вершине горы… Много домов опустело, и случалось, что многие умершие, за неимением родственников или слуг, лежали по нескольку дней несожжёнными…» Согласно свидетельству современников, болезнь сопровождалась бубонами и язвами, причём на различных частях тела, включая голову, из чего можно заключить, что основным переносчиком были блохи. С другой стороны, до нас не дошло ни одного упоминания о кровохарканье и иных поражениях лёгких, что указывает на преобладание бубонной формы, а возможно, и полное отсутствие лёгочной.



Бюст одной из 600 (или 730) статуй древнеегипетской богини Сехмет, изготовленных для храма фараона Аменхотепа III (1400–1351 до н. э.), как благодарность за защиту от чумы. Хранится в Бруклинском музее

Говоря о первой пандемии, нельзя обойти стороной и Древний Египет, чья медицина достигла значительных успехов для своего времени. В исторических документах, таких, как, напри-

мер, медицинский папирус Эдвина Смита, находим упоминания об *jзdwt rnpt* (*iadet renepet)*, то есть ежегодной эпидемии, которая случалась летом во время разлива Нила. Причиной эпидемии считалась разрушительная сила богинь Бастет и Сехмет, чьи стрелы и демоны-посланники разносили болезнь по ветру. В знаменитом «Каирском календаре» упоминается, что всякий, кто будет рождён в день выхода барки богини Бастет, умрёт. Защитой и избавлением могут служить только ритуалы по умилостивлению богинь. Некоторые исследователи связывают ежегодную эпидемию с бубонной чумой, чему подтверждением являются многочисленные статуи богини Сехмет, изготовленные по приказу фараона Аменхотепа III (1400–1351 до н. э.), а также письмо его сына Эхнатона, в котором явно говорится о чуме. Ещё одним доказательством служит метаморфоза образа богини Бастет из львицы в домашнюю кошку, которая, являясь грозным истребителем грызунов, сама выступает в качестве носителя чумы (поэтому от богини идёт и болезнь, и спасение). С другой стороны, к настоящему времени не обнаружено ни одной мумии с характерными для чумы патологоанатомическими изменениями или наличием фрагментов ДНК чумного микроба, поэтому в качестве этиологического агента *iadet renepet* рассматривают также возбудителей полиомиелита, натуральной оспы и малярии[1].

Нужно сказать, что ещё одним аргументом «против» чумы служит то обстоятельство, что до развития торговых отношений (примерно до VII века до н. э.) единственным природным носителем чу-

[1] Тут необходимо заметить, что у соседнего Хеттского царства после непродолжительной войны с египтянами примерно в это же время началась эпидемия, упоминания о которой дошли до нас в молитвах царя Мурсили II (1343–1295 до н. э.), в которых, в частности, обнаруживаются такие слова: «И земля Хеттов сильно пострадала от чумы. При моём отце и моём брате постоянно умирали. И с тех пор, как я стал царём-жрецом, постоянно умирают. Вот прошло с тех пор уже двадцать лет… Неужели чума никогда не исчезнет?». И хотя хеттское слово hi-in-ga-na-az традиционно переводится как «чума» и даже есть сведения об обнаружении чумного микроба в захоронениях, к настоящему времени большинство исследователей склоняется к тому, что эпидемия была вызвана туляремийным микробом. Всё это говорит о сложностях определения этиологического агента древних эпидемий.



мы в Древнем Египте была травяная мышь (*Arvicanthis niloticus*), которая обитала вдали от людских поселений. Вместе с тем на ряде гробничных фресок встречается её изображение. И тут наибольший интерес представляет фреска из гробницы Ме́нны (TT 69), сделанная во времена царствования Аменхотепа III, на которой Менна со своей семьёй рыбачит и охотится. Считается, что действие происходит на болоте (заболоченной части реки Нил), а убийство его обитателей носит сакральный характер защиты египтян от зла (как тут не вспомнить средневековое учение о миазмах!). Среди прочего на фреске можно видеть

◄ *Статуя кошки (бронза, позолота), изготовленная во времена царствования XXII династии (ок. 945–712 гг. до н. э.), при которой культ Бастет достиг своего расцвета. В это время столицей Древнего Египта был посвящённый ей город Пер-Бастет (Бубастис). Статуя была призвана защищать от инфекционных болезней и помогать при родах. Хранится в Музее археологии и антропологии Пенсильванского университета (инв. № E14284)*

Фрагмент фрески из гробницы Менны ►
(любезно предоставлено Романом Александровичем Ореховым)

крадущуюся к гнезду травяную мышь. Вполне возможно, что обитающие в зарослях кустарника, незадолго до ежегодного разлива они массово переселялись к жилищам людей и откочёвывали в привычные для себя места обитания, когда вода спадала, что и обусловливало сезонный характер эпидемии (мышь на фреске можно



рассматривать как ассоциированную с «болотным злом»), которая теоретически могла быть чумой, учитывая, что древние штаммы чумного микроба, скорее всего, вызывали относительно лёгкую форму инфекции (по крайней мере, наиболее успешные потомки древних штаммов, циркулирующие до настоящего дня в очагах евразийского региона, редко вызывают заболевания у людей). Тем не менее достоверно определить этиологический агент *iadet renepet* в настоящее время невозможно.

II

В XIV веке чума начала своё второе путешествие по миру, войдя в историю под названием Atra mors (лат. «чёрная смерть»). Придя, по всей вероятности, с просторов Монголии[1], она, по словам Георгия Но́рбертовича Габричёвского[2], достигла «беспримерного в истории распространения и силы», унеся до 200 млн жизней, истребив «почти половину всего человечества», как напишет английский хронист То́мас Уо́лсингем.

Победоносно пройдя через земли Золотой Орды, к 1346 году чума достигла Крымского полуострова. Там золотоордынский хан Джанибе́к, дабы покорить Генуэзскую крепость Ка́ффа, приказывает катапультами забрасывать трупы умерших воинов, используя последние в качестве биологического оружия. Пользы было мало, поскольку из-за ослабленной болезнью армии осаду пришлось снять, в то время как генуэзцы благополучно уплыли, разнеся чуму по средиземноморским портам. Так чума оказалась в Константинополе. Снова.

«Каждый день наша работа – уносить друзей, – пишет Дими́трий Кидо́нис, учёный и близкий друг императора Иоанна Кантаку́зена, – и нас мучает больше всего то, что люди избегают друг

[1] Другие исследователи указывают на озеро Иссык-Куль (Киргизия), поскольку на его берегах обнаружены могилы, из которых выделены самые ранние для второй пандемии фрагменты ДНК чумного микроба.

[2] 1860–1907; российский врач саксонского происхождения, приват-доцент Московского университета, основатель Московской научной бактериологической школы. Созданный им в 1895 году Бактериологический институт с 1909 года носит его имя (ныне – Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского). Трагически погиб, заразившись при проведении опыта по иммунизации животных для приготовления вакцины против крупозной пневмонии.

друга, опасаясь контакта с болезнью… Ежедневно пустеет Великий город». «Следами той болезни было высыпание на коже… и одновременно кровяная чахотка», – сообщает историк Никифор Григора.

…В царских покоях, под сводами из порфиры, лежит 13-летний юноша, Андроник, младший сын императора Иоанна Кантакузена. Ещё несколько часов назад он был, как всегда, бодр и активен, а сейчас, словно догорающая свеча, угасает на глазах. Он бледен, с пурпурными пятнами на коже. Лишь только солнце скрылось за гладью Босфора, юноша испустил дух, словно устремясь за ним. «Нету помощи ниоткуда», – вздыхает безутешный отец. И мать, поражённая горем, в течение всей своей жизни сохранит эту боль в своём сердце… Верно, верно назвал чуму венецианский поэт Джакомо Руффини *чудовищем тьмы* (лат. monstra nigrantis).

Как позднее напишет Иоанн Кантакузен, чума «не только прошла по Понту, Фракии и Македонии, но и по Элладе, Италии, всем островам, Египту, Ливии, Иудее, Сирии и почти всему кругу ойкумены». На кораблях она побывала в Генуе, Марселе, Александрии, Венеции, Руане, Лондоне… Покоряя прибрежные города и столицы, с беженцами она проникала вглубь континента, добравшись даже до Месопотамии и Персии. Лишь достигнув к 1353 году Фарерских островов и Гренландии, она завершила своё второе путешествие, хотя в качестве отдельных вспышек давала о себе знать в 1545–1683 и 1710–1830 годах. Высокая смертность достигалась невероятной плотностью населения, вынужденного существовать за крепостными стенами, спасаясь от продолжительных войн, а также почти полным отсутствием гигиены в городах, что приводило к размножению крыс и блох. По данным хронистов, только в Константинополе погибло до 8/9 жителей города, хотя именно этот город отличался от других чистотой.

Второе путешествие стало самым большим за всю историю, оставив неизгладимый след в памяти человечества. Чёрные флаги на

колокольнях церквей как универсальный символ болезни. Чумные столбы[1] как символ памяти и благодарности за спасение.

III

Третье путешествие приходится на 1850-е годы и некоторыми исследователями не выделяется в качестве самостоятельной пандемии, поскольку невозможно даже определить точное место её начала, ограничиваясь очагами в Центральном и Юго-Восточном Китае (вероятнее всего, очагом в провинции Юньнань). Тем не менее жертвами стало более 15 миллионов человек. Широкое распространение по миру вплоть до Аравийского полуострова, Африки и Америки стало возможным благодаря высокой миграции людей на фоне глобальной торговли и политических конфликтов. Только к 1960 году количество заболевших начнёт снижаться, а вспышки станут спорадическими (т. е. непостоянными).

Июнь 1894 года стал знаковым. В городе Гонконг для расследования вспышки бубонной чумы прибывают два человека: Александр Эми́ль Жан Йерсе́н[2], по просьбе французского правительства и Института Пастера, и Кита́сато Сибаса́буро[3], по просьбе японского правительства. Представитель научной школы Пастера и представитель научной школы Коха. Первый работает в маленькой хи-

[1] Чумные (мариинские) столбы, памятники с водружённой на них статуей Девы Марии или святых (св. Роха, св. Варвары и иных). Первым чумным столбом считается памятник, установленный в 1638 году в Мюнхене на площади Мариенплац.

[2] Alexandre Émile Jean Yersin, 1863–1943; французский и швейцарский врач, бактериолог. Помимо возбудителя чумы открыл дифтерийный токсин (совместно с Эмилем Ру). Много работал во Вьетнаме, где местные жители дали ему прозвище Ông Năm (вьет. Мистер Нам).

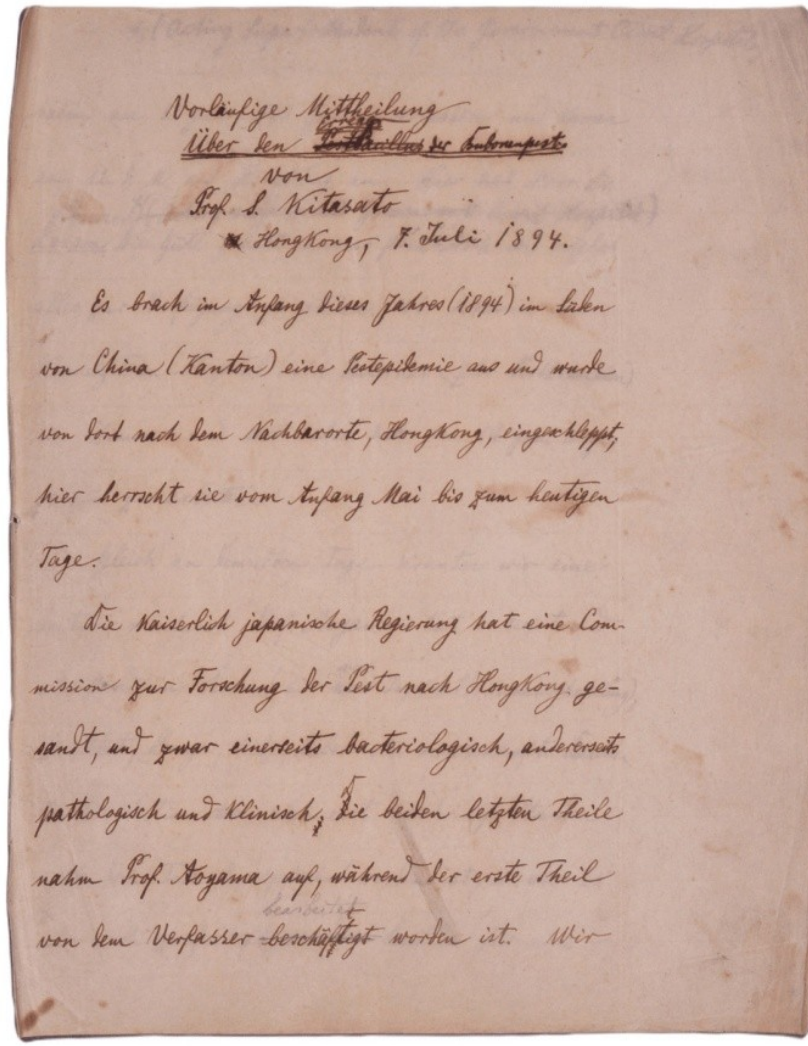
[3] 北里 柴三郎 (*Китасато Шибасабуро*), 1853–1931; японский врач, бактериолог. Член Японской академии наук (1906). Номинант Нобелевской премии по физиологии или медицине (1901). Его фамилия 「北里」, как и многие японские фамилии, записанные иероглифами (ка́ндзи), традиционно имела несколько прочтений. Она могла читаться, как 「キタザト」 (Kitazato) и 「キタサト」 (Kitasato), и изначально читалась первым прочтением. Однако после того, как учёный во время стажировки в Германии подписал себя, как «S. Kitasato», стали использовать второе прочтение. Обратите внимание, что при написании восточноазиатских имён сначала пишется фамилия, а затем имя (иногда во избежание путаницы все буквы фамилии пишут заглавными буквами). Кроме того, следует помнить, что традиционная транслитерация имени на русский язык весьма условна, поэтому здесь и далее после оригинального написания имени будет приводиться произношение, близкое к оригинальному.

жине, поскольку британцы отказывают в доступе в больницы, а второй – в собственной лаборатории. Оба этих человека в июне, с разницей в несколько дней, откроют[1] возбудитель чумы (Рис. 3.1). Китасато Сибасабуро сделает это раньше, но первенство[2] в итоге отойдёт Александру Йерсену.

Впоследствии род, к которому принадлежит чумной микроб, будет назван *Yersinia* в честь Александра Йерсена. А Китасато Сибасабуро, которого сейчас также признают первооткрывателем возбудителя чумы, вернётся в Японию, где впоследствии в городе То-

[1] Kitasato S. *The bacillus of bubonic plague (preliminary notice)*. The Lancet. 1894 (July 7); 1:428–430; Yersin A. *La peste bubonique a Hong-Kong*. Ann Inst Pasteur (Paris). 1894; 8:662–667.

[2] Первоначально оба исследователя считались первооткрывателями чумного микроба (имеющиеся противоречия в докладе Китасато Сибасабуро могли быть связаны с особенностями японского языка и высокой загруженностью из-за ухода за заболевшими коллегами). В своей статье Александр Йерсен указывал на невозможность окраски культуры чумного микроба по Граму («et ne se teignant pas par la méthode de Gram»), что подтверждали многие последующие исследователи (вероятно краски имели недостаточное качество). Китасато Сибасабуро в своей статье также отмечал, что не готов ответить на вопрос окраски («I am at present unable to say whether or no "Gram's double-staining method" can be employed»). Однако через некоторое время японский врач Аойа́ма Танеми́ти (1859-1917), коллега Китасато Сибасабуро, сообщил, что выделенные последним культуры на самом деле были диплококками и окрашивались по Граму в синий цвет (т.е. являлись грамположительными). Возможность этого в 1896 году подтвердил и сам Китасато Сибасабуро, утверждая, что чумной микроб, в отличие от других представителей этого рода, может быть грамположительным. Однако уже в 1899 году он признал эту точку зрения ошибочной. Проведённое другими исследователями сравнение культур двух учёных, хранящихся, соответственно, в Институте Пастера во Франции и в Институте инфекционных болезней (ныне – Институт Роберта Коха) в Германии, показало, что обе являются чумными, но выделенная Китасато Сибасабуро культура контаминирована пневмококком. Вероятно полученная культура не была чистой изначально или контаминация произошла во время транспортировки. Так или иначе описание культуры совпадает с таковым у Александра Йерсена. В научных работах того времени оба исследователя указываются первооткрывателями чумного микроба, однако после публикации статьи французского врача Эми́ля Лагра́нжа, в которой ложно указывалось, будто бы Китасато Сибасабуро отказался считаться первооткрывателем (см. Lagrange E. Concerning the discovery of the plague bacillus. Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 1926; 29:299-303), его имя постепенно забылось, а сам Китасато Сибасабуро считал недостойным добиваться справедливости. Несмотря на то, что после дополнительных проверок культуры, осуществлённых в конце прошлого века, его имя было реабилитировано, до сих пор в среде чумологов оно почти неизвестно.



Vorläufige Mittheilung
über den [illegible]
von
Prof. S. Kitasato
Hongkong, 7. Juli 1894.

Es brach im Anfang dieses Jahres (1894) im Süden von China (Kanton) eine Seuchepidemie aus und wurde von dort nach dem Nachbarorte, Hongkong, eingeschleppt, hier herrscht sie vom Anfang Mai bis zum heutigen Tage.

Die Kaiserlich japanische Regierung hat eine Commission zur Forschung der Pest nach Hongkong gesandt, und zwar einerseits bacteriologisch, andererseits pathologisch und klinisch; die beiden letzten Theile nahm Prof. Aoyama auf, während der erste Theil von dem Verfasser bearbeitet worden ist. Wir

Черновик статьи Китасато Сибасабуро об открытии чумного микроба, написанный на немецком языке. Перевод на английский язык был подан в журнал The Lancet, а оригинал, вместе с образцами полученной культуры, отправлен Роберту Коху в Германию
(любезно предоставлено Мемориальным музеем Образовательной корпорации Института Китасато)

кио учредит институт в знак протеста против включения Института инфекционных болезней в состав Токийского университета[1].

Трагедия жизни Китасато Сибасабуро состоит в том, что в 1890 году, во время стажировки в Германии, совместно с Эмилем фон Берингом[2] он получит противодифтерийную сыворотку, но Нобелевской премией за это открытие в 1901 году удостоят только последнего. В 1894 году, как уже говорилось, он откроет возбудитель чумы, но пальма первенства отойдёт тогда Александру Йерсену. Вместе с тем когда его ученики Сига́ Киёси[3], Э́ндо Сиге́ру[4] и Хата́ Саха́тиро[5], совершат свои открытия, Китасато Сибасабуро откажет-

---

[1] Данное событие означало переподчинение института от Министерства внутренних дел к Министерству образования, то есть фактическую потерю функций надзорного органа по эпидемиологическому благополучию.

[2] Emil Adolf von Behring, 1854–1917; немецкий (прусский) военный врач, бактериолог, иммунолог. Лауреат Нобелевской премии по физиологии или медицине (1901). Финансовое положение семьи не позволяло Эмилю фон Берингу учиться в медицинском учебном учреждении, поэтому в 1874 году он поступает в военно-медицинское, обучение в котором бесплатное (после окончания необходимо 10 лет отслужить в армии), которое оканчивает в 1878 году. Подписант письма «К культурному миру» (в историю вошло как «Манифест девяноста трёх», нем. «Manifest der 93»), которое оправдывало действия Германии в Первой мировой войне. Автор работ по инфекционным болезням, основатель серотерапии.

[3] 志賀潔 (*Шига Киёши*), 1871–1957; японский врач, бактериолог. Открыл и описал в 1989 году возбудитель бактериальной дизентерии (*Shigella dysenteriae*). Ректор Императорского университета Кэйдзё (1929–1931) в совр. городе Сеул (Южная Корея). Смену исследовательского пути на административный позже считал «дорогой скорби» («Оглядываясь назад, я сожалею, что не посвятил лучшие годы жизни научным исследованиям и книгам, отдав столько умственных и физических сил мирским заботам»). К моменту возвращения на родину учитель скончался, поэтому ему Сига Киёси посвятил каллиграфию «Следуй за духом учителя, а не по его стопам». В честь Сига Киёси (ранее Шига) назван род *Shigella* и продуцируемый (т. е. выделяемый) некоторыми бактериями Шига-токсин (*Sh. dysinteriae 1 серовара, E. coli O157:H7*).

[4] 遠藤滋 (*Эндо Шигеру*), 1870–1937; японский врач, бактериолог. Создал в 1904 году дифференциально-диагностическую питательную среду для выделения энтеробактерий, получившую название «среда Эндо». В 1906 году, на пике карьеры, повинуясь многовековой традиции, вернулся в родной город Сидзуока, чтобы продолжить семейное дело – частную врачебную практику (отец был призван в армию в качестве отставного военного врача, а старший брат скончался). Большое внимание уделял больным туберкулёзом, но открытию профильной больницы воспротивились местные жители. После смерти отца вернулся в город Токио, где открыл небольшой пульмонологический кабинет. Имя учёного почти неизвестно на Родине.

[5] 秦 佐八郎 (*Хата Сахатиро*), 1873–1938; японский врач, бактериолог. Номинант Нобелевской премии по химии (1911) и по физиологии или медицине (1912, 1913).

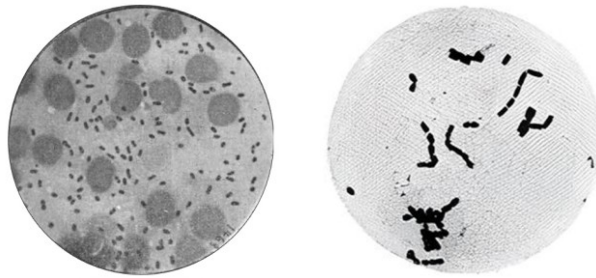


Рис. 3.1. *Культуры чумного микроба:*
слева – выделенная Китасато Сибасабуро из крови (по Kolle W., 1897)[1]; справа – выделенная Александром Йерсеном из бубона и после подрощенная в бульоне (по Yersin A., 1894). Китасато Сибасабуро описывал выделенную культуру как «яйцевидные (овоидные) палочки с закруглёнными концами и несколько более светлым центром, покрытые капсулой», а Александр Йерсен – как «короткие, толстые палочки с закруглёнными концами, часто покрытые капсулой»

ся быть соавтором статей, дабы слава досталась ученикам; когда ещё никому неизвестный Но́гучи Хидэ́ё[2] будет пойман на воровстве книг из библиотеки, он вместо увольнения направит его работать карантинным офицером в порт Йокога́мы – не это ли выражение философии бусидо́[3]?

Занимался исследованиями чумы под руководством Китасато Сибасабуро. Один из авторов «Закона по профилактике инфекционных заболеваний» (Япония, 1897).

[1] История этого изображения удивительна. Выделенную культуру вместе с черновиком статьи Китасато Сибасабуро отправил Роберту Коху в Германию. Затем, поскольку статья содержала лишь рисунки культуры, немецкий врач и медицинский фотограф Эми́ль Це́ттнов (1842–1927) сделал фотографии культур и передал их немецкому врачу Вильге́льму Ко́лле (1868–1935), который и опубликовал их.

[2] 野口 英世 (*Ногучи Хидэё*), 1876-1928; японский врач, бактериолог. Многократный номинант Нобелевской премии по физиологии или медицине. Обнаружил бледные трепонемы (*Treponema pallidum*) в коре головного мозга больных прогрессирующим параличом. Изучал жёлтую лихорадку в Перу, выделив *Leptospira icteroides* в качестве возбудителя заболевания, что позднее было опровергнуто (возбудитель – арбовирус *Viscerophilus tropicus*). Считается, что причиной ошибки стала неточность в дифференциальной диагностике – болезнью в Перу была не жёлтая лихорадка, а лептоспироз (разработанная Ногучи Хидеё вакцина эффективна против этого заболевания). Предложил родовое название *Leptospira*. В честь Ногучи Хидэё назван вид *Leptospira noguchii*.

[3] С яп. «путь воина» (武士道, *бусидо*); кодекс самурайской этики и морали, возникший в Японии в период Эдо (1603–1868) и до настоящего дня оказывающий влияние на социальную жизнь японцев.



Александр Йерсен
(любезно предоставлено Библиотекой Университета Париж Сите)



Китасато Сибасабуро во время стажировки в Германии. Фотография сделана в память о создании противодифтерийной сыворотки. В руках учёного изобретённый им прибор для культивирования анаэробных бактерий (любезно предоставлено Мемориальным музеем Образовательной корпорации Института Китасато)

Эти три истории при кажущейся на первый взгляд ненужности таят в себе очень много. Мы видим, что возбудитель чумы – *Yersinia pestis*[1] – обитает в определённых местах (природных очагах[2]) и «заходит» к людям случайно, переносимый мигрирующими из-за голода животными, преимущественно грызунами. Заражение человека осуществляется через укус блохи, например, *блохи крысиной южной* (*Xenopsylla cheopis*), что паразитирует на живущей в домах *крысе чёрной* (*Rattus rattus*), которая, в свою очередь, переносит чумной микроб. Стоит отметить, что *блоха человеческая* (*Pulex irritans*) не паразитирует на крысах, но также способна переносить чуму, толь-

[1] До 1900 года *Bacterium pestis*, до 1920 года *Bacillus pestis*, до 1947 года *Pasteurella pestis* (*Pestisella pestis*).

[2] По Игорю Валериановичу Домарадскому: определённые ландшафты, заселённые грызунами, видовые и межвидовые отношения которых обеспечивают непрерывную циркуляцию чумного микроба от донора через членистоногих реципиентам.

ко от человека к человеку (редко). Именно так можно объяснить наличие бубонов не только в паховой области (укус блохи южной в ногу), но и на других участках тела и даже на голове (укус блохи человеческой спящих людей).

Преобладание бубонной формы в период первой пандемии и появление лёгочной формы в период второй указывает на эволюционное развитие генетической структуры бактерии, которое влияет на внутривидовую дифференциацию.

Первые попытки внутривидовой классификации относятся к началу прошлого века, когда в 1928 году Анна Артемьевна Безсо́нова[1] разделила[2] все штаммы чумного микроба по одному биохимическому свойству – способности ферментировать глицерин. Так штаммы чумного микроба были разделены на глицеринположительные (т. е. способные ферментировать глицерин) и глицеринотрицательные (т. е. не способные ферментировать глицерин). Уже через 10 лет Абрам Львович Бе́рлин[3] и Александр Кириллович Борзенко́в[4] предложили переименовать глицеринположительные штаммы в континентальную расу, а глицеринотрицательные – в океаническую. Названия рас были выбраны не случайно. Дело в том, что первые чаще циркулируют в популяции грызунов центральной части Евразийского региона («на континенте»), тогда как вторые чаще выделяются от крыс в морских портах («в океане»). В 1951 году Рене́ Девиньи[5] предложил[6] дифференцировать чумной микроб уже по трём показателям: ферментации глицерина, нит-

---

[1] 1889–?; советский (российский) врач, бактериолог. Лауреат Сталинской премии. Автор работ по микробиологии чумного, туляремийного и псевдотуберкулёзного микробов. Встречается написание фамилии «Бессонова».

[2] Безсонова А. А. *О двух разновидностях B. pestis, обнаруживаемых при росте на глицериновых средах*. Вестник микробиологии. 1928; 7(3):250–253.

[3] 1903–1939; советский (российский) врач, бактериолог, эпидемиолог, разработчик реакции серологической диагностики чумы, занимался модернизацией вакцинного производства.

[4] Советский (российский) врач, бактериолог.

[5] René Devignat; бельгийский врач, бактериолог. Директор больницы в городе Костермансвилль (ныне – Букаву), Школы тропической медицины и Школы медицинской помощи коренным народам в городе Элизабетвилль (ныне – Киншаса), Бельгийское Конго.

[6] Devignat R. *Variétés de l'espéce Pasteurella pestis. Nouvelle hypothése*. Bull. Org. mond. Santé (Bull.World Hlth Org.). 1951; 4(2):247–263.

рификации и денитрификации. Так он выделил три биовара (пишут «bv.») [1] : antiqua (античный), medievalis (средневековый), orientalis (восточный), предположив, что каждый из них ответственен за возникновение одной из пандемий. В 1957 году Виктор Михайлович Тума́нский[2], используя экологический подход Абрама Львовича Берлина и Александра Кирилловича Борзенкова, предложил именовать эти биовары marmotae (сурчиный), citelli (сусликовый) и ratti (крысиный). В последующие годы был предложен ещё ряд критериев для классификации (в том числе молекулярно-генетические), а обнаружение новых штаммов также вносило свои коррективы.

В настоящее время широко используется классификация Рене Девинья, к которой добавили ещё два биовара: intermediate (промежуточный между antiqua и orientalis) и pestoides[3], и классификация приобрела следующий вид:

bv. antiqua (ANT)

bv. medievalis (MED)

bv. orientalis (ORI)

bv. intermediate (IN)

bv. pestoides (PE)

К биовару pestoides относят те древние (предковые) штаммы, которые обнаруживаются в многочисленных природных очагах Евразийского региона[4]. Они высоковирулентны для своих носителей (полёвок и пищух) и лабораторных мышей, но, как правило, слабовирулентны или авирулентны для морских свинок и людей – редко вызывают заболевание у людей, поэтому обладают *низкой*

[1] От лат. bios и varietas – биологический вариант, биотип; внетаксономическая систематическая категория для обозначения вариантов одного штамма микроорганизма, отличающихся по биохимическим признакам.

[2] Советский (российский) врач, бактериолог. Лауреат Государственной премии СССР.

[3] Термин впервые предложен российским врачом Иваном Лукьяновичем Мартине́вским.

[4] Природные очаги, из которых выделяют эти штаммы (за исключением штамма Angola), располагаются на территориях бывшего СССР и сопредельных Китая и Монголии.

эпидемической значимостью. Тем не менее их изучение важно не только для понимания микроэволюции чумного микроба, но и для выявления общих (универсальных) факторов патогенности и вирулентности. Внутривидовой классификацией этих штаммов занимаются, как правило, исследователи из стран, на территории которых они выделяются.

В 1985 году в СССР была принята собственная «ведомственная» классификация, предполагавшая разделение на подвиды (лат. subspecies; обычно пишут «subsp.» или «ssp.»). Будучи обновлённой сотрудниками противочумного института «Микроб»[1] с учётом некоторых данных SNP-типирования (о нём подробнее в Главе 38), на сегодняшний день она выглядит следующим образом:

основной подвид:

subsp. *pestis* (включает ANT, MED, ORI и IN)

не основные подвиды:

subsp. *caucasica* (кавказский)

subsp. *angolica* (ангольский)

subsp. *central asiatica* (центральноазиатский)

bv. altaica (алтайский)

bv. hissarica (гиссарский)

bv. talassica (таласский)

bv. microtus

subsp. *tibetica* (тибетский)

subsp. *ulegecia* (улегейский)

subsp. *qinghaica* (цинхайский)

Можно видеть, что в составе центральноазиатского подвида дополнительно выделяют четыре биовара.

---

[1] Попов Н. В., Ерошенко Г. А., и др. *Эпидемиологическая и эпизоотическая обстановка по чуме в Российской Федерации и прогноз её развития на 2020–2025 гг.* Проблемы особо опасных инфекций. 2020; 1:43–50; DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-43-50.

На бумаге всё это имеет следующий вид (пример):

– «*Y. pestis* subsp. *pestis* bv. antiqua»,

– «*Y. pestis* subsp. *central asiatica* bv. altaica»[1].

С другой стороны, сотрудниками Государственного научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии (Оболенск)[2] предлагается разделение на:

основной подвид:

subsp. *pestis* (монофилетическая группа, объединяющая эпидемические и пандемические штаммы)

не основной подвид:

subsp. *microti* (парафилетическая группа, объединяющая все эндемические штаммы).

В основе этой классификации, как можно догадаться, лежит медицинское значение различий между группами штаммов, поскольку выделение для вида *Y. pestis* иных систематических рангов менее таксономической единицы (подвида) не приемлемо.

Оба варианта внутривидовой классификации основаны на SNP-кластеризации, практически идентичной и позволяющей сравнивать результаты исследований, проведённых не только в этих двух организациях, но и в любой лаборатории, где можно проводить SNP-типирование штаммов чумного микроба. Тем не менее вопрос внутривидовой таксономии до настоящего дня остаётся открытым, а окончательное его решение возможно только после опубликова-

[1] Обратите внимание, что названия вида и подвида пишутся курсивом, а биовара – обычным шрифтом, что является традицией для всех живых организмов. В редких случаях ещё могут в скобках добавить фамилию автора, давшего название, и год, когда вышла его публикация. Например: *Y. pestis* (van Loghem, 1944).

[2] Кисличкина А. А., Платонов М. Е., и др. *Рациональная таксономия Yersinia pestis*. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2019; 37(2):76–82; DOI: 10.17116/molgen20193702176.

ния соответствующей классификации Международным комитетом по систематике прокариот[1].

Палеонтологические исследования древней ДНК, выделенной в основном из зубов доисторических людей, поскольку там она сохраняется наилучшим образом, позволяют утверждать, что *Y. pestis* произошла от общего предка[2] и отделилась от *Y. pseudotuberculosis* серотипа I (вероятно, *Y. pseudotuberculosis O:1b*) примерно 7000–20000 лет назад, в эпоху позднего плейстоцена, путём приобретения двух плазмид и потери хромосомных генов. Выдвигается предположение, что видообразование произошло в Центральной Азии в популяции монгольского сурка под действием климатических факторов[3, 4]. Так или иначе, но именно приобретение *Y. pestis* двух плаз-

[1] Весьма уместно здесь замечание канадских исследователей: «система биоваров проста в применении, так как во многом ориентирована на два свойства – способность ферментировать глицерин и восстанавливать нитраты. Однако эта простота компенсируется растущим признанием региональных несоответствий в метаболических профилях. Ситуация еще больше усугубляется секвенированием нежизнеспособных, "вымерших" штаммов *Y. pestis*, метаболическое подтипирование которых представляет собой сложную задачу. Исследователи отреагировали на эту неопределенность по-разному: одни экстраполируют существующие биовары и создают новые псевдобиовары (PRE), другие вообще отказались от номенклатуры биоваров в пользу таксономий, разработанных на местном уровне. Несмотря на обширные исследования, остается неясным, какие метаболические признаки (если таковые имеются) можно использовать для классификации *Y. pestis*» (см. Eaton K., Featherstone L., et al *Plagued by a cryptic clock: insight and issues from the global phylogeny of Yersinia pestis*. Commun Biol. 2023; 6:23; DOI: 10.1038/s42003-022-04394-6).

[2] В научной литературе общего предка принято обозначать как MRCA (от англ. **m**ost **r**ecent **c**ommon **a**ncestor) или LCA (от англ. **l**ast **c**ommon **a**ncestor).

[3] С другой стороны, высказывается предположение о происхождении в долине Нила в популяции крыс.

[4] Согласно сценарию, предложенному советскими и российскими биологами Виктором Васильевичем Сунцо́вым (р. 1947) и Ниной Ивановной Сунцо́вой (р. 1952), видообразование произошло во время сартанского оледенения, когда на территории современной Монголии почва промерзала до глубины расположения зимовочных камер монгольских сурков-тарбаганов (*Marmota sibirica*). В этих условиях в силу положительного термотаксиса (т. е. направления движения живого организма в зону оптимальной температуры) личинки сурочьей блохи *Oropsylla silantiewi*, обычно обитающие в гнездовой выстилке, перемещались в шерстяной покров, откуда проникали в ротовую полость, где нарушали целостность слизистых оболочек. В места укусов проникали бактерии *Y. pseudotuberculosis*, которые присутствовали в ротовой полости вместе с частицами фекалий, поскольку сурки их используют для строительства зимовочной пробки, закрывающей вход в норку. В период спячки температура тела сурка медленно изменяется до 15 раз в диапазоне 5–37°C, ввиду чего изме-

мид (pFra и pPla, но об этом чуть позже) и инактивация (мутация промотора) гена *pde3* стали с точки зрения генетики той «точкой невозврата», навсегда отделившей *Y. pestis* от *Y. pseudotuberculosis*. Справедливости ради следует заметить, что некоторыми исследователями оба микроорганизма (*Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis*) объединены в состав комплекса «Y. pseudotuberculosis» ввиду высокой гомологии (т. е. схожести) геномов[1]. Однако это чисто биологическое мнение не принимается медицинским сообществом из-за различий в экологии, путях распространения, контагиозности (т. е. заразительности) и клинической картине, наглядно доказывая разницу между биологическим и медицинским подходами при рассмотрении одного и того же предмета.

На этом месте следует остановиться немного подробнее. Приобретение плазмид является сложным процессом, который осуществляется путём так называемого *горизонтального переноса*, то есть приобретения генов организмом не от родителей. И в отличие от неуправляемого приобретения от родителей, что характерно для млекопитающих и человека, приобретение генов в данном случае является управляемым процессом (приобретаются конкретные гены), можно сказать, «осознанным». Горизонтальный перенос генов возможен тремя путями: *трансформацией* (проникновение ДНК внутрь бактерии через покровы компетентных клеток), *трансдукцией* (заражение умеренным бактериофагом[2]) и *конъюгацией* (перенос

няется и активность иммунной системы, что сыграло ведущую роль в образовании переходных форм *Y. pestis* / *Y. pseudotuberculosis*. В тёплый сезон года, когда температура тела сурка стабильно составляет 37°С, микроб подавляется иммунитетом здорового животного, поэтому данный период эволюционирующий микроб переживает в блохе в виде биоплёнки. На последней стадии эволюционного процесса микроб приобрёл способность к синтезу вещества (бактериоцина), способного подавлять рост *Y. pseudotuberculosis*, что привело к невозможности сосуществования двух микробов (тут нужно оговориться, что не все штаммы способны к синтезу бактериоцина).

[1] К данному комплексу также относят виды *Y. similis* и *Y. wautersii* (ранее относимые к виду *Y. pseudotuberculosis*).

[2] Бактериофаги или вирусы бактерий подразделяются на *вирулентные* (*литические*) и *умеренные (лизогенные)*. В результате жизненного цикла первые нарабатывают новые копии вируса внутри бактериальной клетки и вызывают разрушение её стенки (например, механически или ингибируя её синтез), тогда как вторые «живут» в бактерии в виде генетической информации (чаще встраивают её в геном бактериальной клетки – это состояние принято называть «*профаг*») до наступления «тяжёлых

ДНК между бактериальными клетками при их непосредственном контакте). Существуют предположения, что чумной микроб приобрёл плазмиды pFra и pPla много лет назад от других бактерий (конъюгацией). Так или иначе, но приобретя их, *Y. pestis* сделалась своеобразной «белой вороной» рода *Yersinia*.

Инактивация ряда хромосомных генов, в частности *ureD*, *rcsA*, *flhD*, *pde2* и *pde3*, и достаточно быстрое приобретение микробом плазмиды pFra, которая несёт ген *ymt*, кодирующий синтез **мышиного токсина** (Ymt, от англ. **Y**ersinia **m**urine **t**oxine), гомологичного фосфолипазе D, внесло решающий вклад в возможность переноса *Y. pestis* блохами (как уже упомянутой блохой крысиной южной, так и блохами рода *Oropsylla*, паразитирующими преимущественно на грызунах). Своё название он получил из-за способности, в случае введения в виде чистого препарата, вызывать гибель мышей и крыс (при отсутствии токсичности для морских свинок, кроликов и обезьян). Интересно, что синтез токсина осуществляется бактерией при температуре не выше 28°C, следовательно, в теле млекопитающего токсин не синтезируется, и только после попадания вместе с кровью млекопитающего в блоху бактерия начинает его синтезировать в цитоплазматическую мембрану. Функция – защита бактерии от действия бактерицидного продукта переваривания эритроцитов крови, что обеспечивает лучшую выживаемость в пищеварительном тракте. Тут нужно, однако, заметить, что протективное действие токсина зависит от двух факторов: скорости переваривания крови и её источника. Так, поскольку самки насасывают крови больше, чем самцы, то переваривают они её медленнее и, соответственно, вероятность их бактериальной колонизации значительно выше. Кроме того, Ymt необходим, когда речь идёт о крови человека, мыши или крысы чёрной, но он не требуется в случае серой крысы (*Rattus norvegicus*). Эти данные свидетельствуют в пользу того, что ещё до приобретения мышиного токсина *Y. pestis* могла переноситься блохами от серой крысы, но приобретение Ymt способствовало расширению круга млекопитающих, от которых возможен перенос блохами, что, в свою очередь, повышало трансмис-

---

времен», при которых бактериофаг может перейти в литическую стадию. Интересно, что экспрессия токсинов у многих бактерий обусловлена генами профагов.

сивность и в конечном итоге привело к первой пандемии чумы, для которой характерно преобладание бубонной формы.

Другим важным приобретением стала плазмида pPla, несущая несколько важных генов, среди которых выделим *pla*, отвечающий за выработку протеазы Pla, способной расщеплять плазминоген хозяина (млекопитающего). Древняя форма Pla достаточна для развития чумной пневмонии, а замена всего одной аминокислоты в этом белке привела к повышенной способности активировать плазминоген (подробнее об этом поговорим в Главе 6), что сыграло ключевую роль в способности вызывать инвазивную инфекцию, ассоциированную с бубонной формой чумы. И именно это событие навсегда разделило предковые (древние), «переходные», штаммы *Y. pestis* (линия 0)[1] от современных (линии 1, 2, 3 и 4). Сообщается, что штаммы, лишённые *pla* (кавказские штаммы), высоко вирулентны[2] для своих основных хозяев – полёвок, но могут как быть авирулентны для людей, так и вызывать относительно лёгкую форму инфекции, что наталкивает нас на следующую мысль: приобретённые плазмида и мутация не играют ведущей роли в вопросе общей вирулентности. Тут важно заметить, что потеря родоспецифичной (т. е. общей для патогенных видов рода *Yersinia*) плазмиды pCad делает штамм авирулентным (т. е. не способным вызывать инфекционный процесс).

Затем микроэволюция *Y. pestis* привела к разделению на две основные филогенетические ветви: ветвь 1, которая состоит из подветвей antiqua (1.ANT[3]) и orientalis (1.ORI), и ветвь 2, которая состоит из подветвей medievalis (2.MED) и asian antiqua (2.ANT). Ранее мы говорили, что биовары ANT, MED и ORI ответственны за три панде-

[1] Именно они по классификации объединяются в *pestoides* или неосновные подвиды.

[2] Понятия «вирулентность», «патогенность» (т. е. разрушительность для организма, способность вызывать заболевание) и «восприимчивость» (т. е. способность к заболеванию), как справедливо отметил Игорь Валерианович Домарадский, «нельзя отделять одно от другого, и если это делается, то только в методологических целях». Стоит отметить, что список факторов (детерминант) вирулентности со временем меняется. Так, например, считавшиеся ранее факторами вирулентности W-антиген и пестицин в настоящее время таковыми не считаются.

[3] Обозначение для ветви (подветви) филогенетического дерева, где цифра перед точкой обозначает номер ветви. Соответствует SNP типу.

мии. Вместе с тем на современном этапе[1] штаммы по пандемиям распределяют следующим образом: первая – 0.ANT2-5, 3.ANT, 4.ANT и 2.MED; вторая – 1.ANT, 1.IN; третья – 1.ORI1.

Что касается древних штаммов, то часть вариантов вымерла (например, ветви Gok2[2] и LNBA[3]), а потомки наиболее успешных циркулируют до настоящего дня. Все они относятся к ветви 0 и имеют в рамках классификации, предложенной сотрудниками противочумного института «Микроб», следующие «соотношения» обозначений (SNP типов) к неосновным подвидам: 0.PE7 (subsp. *tibetica*), 0.PE2 (subsp. *caucasica*)[4], 0.PE10 (subsp. *qinhaica*), 0.PE3 (subsp. *angolica*), 0.PE4 (subsp. *central asiatica*), 0.PE4a (bv. altaica)[5], 0.PE4h (bv. hissarica), 0.PE4t (bv. talasica), 0.PE4m (bv. microtus)[6], 0.PE5 (subsp. *ulegeica*)[7]. В этом случае эти обозначения могут называть *генетическими вариантами* или *геновариантами* (пишут «var.»)[8]. На практике же такая «привязка» вызывает определённые сложности из-за наличия альтернативных классификаций, поэтому большинство исследовате-

---

[1] Demeure C. E., Dussurget O., et al. *Yersinia pestis and plague: an updated view on evolution, virulence determinants, immune subversion, vaccination, and diagnostics*. Genes Immun. 2019; 20(5): 357–370; DOI: 10.1038/s41435-019-0065-0.

[2] Существовала 5700 лет назад; ДНК одноимённого штамма этой линии была обнаружена в захоронении эпохи неолита (Фрелсегорден, Швеция). Оценить патогенность невозможно (нет живой бактерии), однако обнаружение фрагментов ДНК штамма в зубах указывает на то, что его титр в крови был высоким.

[3] Существовала 2500–5000 лет назад; исследования генома штаммов этой линии показывают, что они, как и современные штаммы чумного микроба, могли синтезировать Ymt, но, проявляли уреазную активность (как штаммы псевдотуберкулёзного микроба) и, вероятно, не имели способности к образованию блока у блох.

[4] Включает генетические ветви I, II и III, причём ветвь II состоит из IIa (присеванская), IIb (зангезуро-карабахская) и IIc (зангезуро-карабахско-приараксинская).

[5] Включает кластеры 0.PE4a-1 и 0.PE4a-2, которые, в свою очередь, разделяются на субкастеры 0.PE4a-1-1, 0.PE4a-1-2, 0.PE4a-2-1 и 0.PE4a-2-2.

[6] Некоторыми исследователями разделяется на биовары xilingolensis и qinghaiensis.

[7] Наиболее «поздняя» ветвь эволюции среди всех неосновных подвидов, позже всех отделившаяся от ветви 0 (примерно 3500 лет назад). Включает генетические ветви 0.PE5/1 и 0.PE5/2, причём вторая подразделяется на подветви 0.PE5/2-1 и 0.PE5/2-2.

[8] Внетаксономическая категория, под которой понимают микроорганизм, отличающийся от основного штамма генетически, но недостаточно, чтобы считаться отдельной таксономической единицей (подвидом, видом). То есть, когда речь идёт о четвёртом генетическом варианте штамма *Y. pestis* subsp. *central asiatica* нулевой ветви, пишут «var. 0.PE4».

лей ограничивается указанием именно SNP-типа (т. е. 0.PE2, 0.PE7 и т. д.)[1].

Возвращаясь к вопросу вирулентности, отметим, что штаммы основного подвида имеют высокую вирулентность для своих основных носителей и человека, из-за чего представляют высокую эпидемическую значимость. У подвидов древних штаммов может быть различная вирулентность, но в целом они вызывают единичные заболевания и, соответственно, имеют низкую эпидемическую значимость.

При секвенировании генома *Y. pestis* (и сравнении с *Y. pseudotuberculosis*) был выявлен участок, кодирующий профаг, названный Ypfφ (*Yersinia pestis* filamentous phage), и представляющий собой геном нитчатого бактериофага (Рис. 3.2).

Нитчатые бактериофаги, принадлежащие к роду *Inovirus* семейства *Inoviridae*, достаточно широко распространены, но лишь некоторые из них паразитируют в умеренной форме, то есть «живут» в бактериальном геноме в виде профага. Какова роль профага Ypfφ, в настоящее время не известно. Интересно, что кодируемый геном *zot* одноимённый белок структурно гомологичен белку Zot (от англ. **z**onula **o**ccludens **t**oxin) других бактерий. Например, у холерного вибриона этот белок, кодируемый генами профага CTXφ, является фактором вирулентности, поскольку увеличивает проницаемость эпителиальных барьеров в кишечнике, что приводит к развитию гастроэнтерита. Каковы же функции белка Zot у чумного микроба, пока не выяснено. Известно только, что образование комплекса с белком GspD2 (он также кодируется генами Ypfφ) облегчает сборку и секрецию ви-

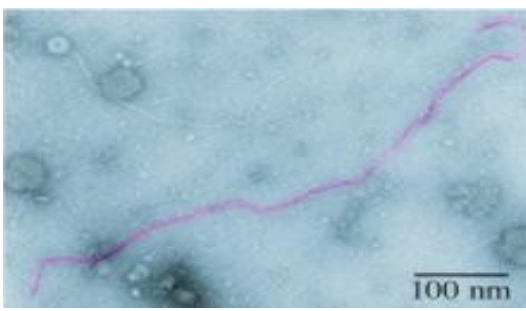


Рис. 3.2. *Бактериофаг Ypfф (по A. Derbice, 2014)*

[1] Обозначение PE было предложено в 2004 году канадским и британским биологом Марком Ахтманом, который использовал первые буквы термина pestoides, ранее предложенного российским врачом Иваном Лукьяновичем Мартинéвским.

рионов Ypfφ из клеток хозяина, а это значит, что бактериальная клетка обладает потенциалом к горизонтальной передаче его генов, что, как следствие, играет роль в создании новых патогенов! При этом стабильное сохранение профага Ypfφ наблюдается только в штаммах биовара orientalis, тогда как в штаммах остальных биоваров он может обнаруживаться только в виде неустойчивого внехромосомного элемента (т. е. сам по себе внутри бактериальной клетки), хотя такое сохранение некоторыми исследователями исключается[1]. Так или иначе, стабильное сохранение профага только в штаммах биовара orientalis позволило ряду исследователей выдвинуть предположение[2] о ведущей роли штаммов этого биовара в распространении инфекции по время третьей пандемии.

И тут нужно оговориться, что в геноме чумного микроба много профагов. Большинство из них закреплены за счёт мутаций. Так, один из неактивных профагов, присутствующий в геноме большинства штаммов, используется в качестве инструмента детекции (мишень праймеров «3a» в полимеразной цепной реакции). Вместе с тем почему стабилизация бактериофага возможна только в штаммах линии ORI, несмотря на идентичный механизм интеграции во всех линиях, до сих пор остаётся вопросом без ответа. Вполне возможно, что это стало возможным благодаря имеющимся мутациям в генах, ответственных за процессы рекомбинации (т. е. перераспределения) или репарации (т. е. восстановления повреждений).

Тут следует немного отойти от основной темы, чтобы заметить, что вся описанная ранее внутривидовая эволюция (с разделением на ветви) базируется на данных молекулярных методов с целью установления филогении (т. е. родственных связей) и построения так называемого филогенетического дерева (Рис. 3.3). Однако оценка изменения генов является сложным процессом и не всегда объективным, поэтому говорить о том, какой штамм от какого произошёл, следует с определённой долей вероятности (т. е. «скорее всего было вот так»). Тем не менее приведём филогенетическое

---

[1] Bonczarowska J. H., Susat J., et al. *Ancient Yersinia pestis genomes lack the virulence-associated YpfΦ prophage present in modern pandemic strains*. Proc Biol Sci. 2023; 290(2003):20230622; DOI: 10.1098/rspb.2023.0622.

[2] Derbise A., Carniel E. *YpfΦ: a filamentous phage acquired by Yersinia pestis*. Front Microbiol. 2014; 5; DOI: 10.3389/fmicb.2014.00701.

дерево, чтобы проиллюстрировать как описанную ранее микроэволюцию чумного микроба, так и внутривидовое разнообразие.

Возвращаясь к нашей теме, не будем забывать, что приобретение новых свойств стало возможным не только благодаря приобретению плазмид и профагов, но и редукции (упрощения) генома путём инактивации или делеции (потери участка) генов. И в этой связи хочется вспомнить замечательные слова, сказанные некогда Игорем Валериановичем Домарадским[1]: «Приобретая нечто новое, микробы нередко теряют старые, не менее важные признаки». И действительно, одновременно с приобретением плазмиды pFra произошла инактивация ряда генов, в частности, гена *ureD*, ответственного за уреазную активность, то есть все представители рода *Yersinia* проявляют достаточно мощную уреазную активность[2], а *Y. pestis* – нет (вспомним, что у штаммов линии LNBA она была), что, с другой стороны, можно использовать при дифференциальной диагностике в лаборатории. В качестве другого примера укажем инактивацию гена *yadA* родоспецифичной плазмиды pCad, который отвечает за синтез адгезина YadA. Данный адгезин играет ведущую роль в обеспечении сывороточной резистентности и прикреплении бактерии к энтероцитам с последующей транслокацией через М-клетки слизистой оболочки кишечника.

Таким образом, утеря возможности продуцировать адгезин YadA привела к невозможности заражения через кишечник (как это происходит у других патогенных йерсиний, в частности, *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis*) и, следовательно, существенным образом повлияла на становление механизма заражения чумным микробом. В качестве своеобразной «вишенки на торте» укажем, что за весь путь эволюционного развития *Y. pestis* (относи-

[1] 1925–2009; советский и российский врач, бактериолог. Академик Академии медицинских наук СССР (1991). Директор Иркутского (1957–1964) и Ростовского (1964–1973) противочумных институтов. Как крупный специалист по чуме и туляремии, с 1970-х годов был привлечён к советской программе по разработке бактериологического оружия (работы по генетической модификации бактерий с целью повышения их вирулентности и антибиотикорезистентности); заместитель директора по науке во ВНИИ прикладной микробиологии (ныне – Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии). В автобиографической книге «Перевёртыш» выражал раскаяние в данной работе.

[2] Фермент уреаза катализирует превращение мочевины в аммиак и углекислый газ.

тельно *Y. pseudotuberculosis*) приобрела только 32 хромосомных гена, не считая двух уже упомянутых плазмид, тогда как потеряла 317 генов и ещё 150 стали псевдогенами (утратили способность кодировать белки), что указывает на то, что целых 13% генов *Y. pseudotuberculosis* больше не функционируют у *Y. pestis*. И именно эта редуктивная эволюция, по мнению ряда авторов, вероятно, является более важной, чем приобретённые гены, поскольку последние не вносят сильного вклада в вирулентность (вспомним: потеря родоспецифичной плазмиды pCad делает штамм авирулентным!), но именно она (потеря генов), вероятно, и позволила *Y. pestis* возникнуть из менее вирулентного близкородственного предшественника.

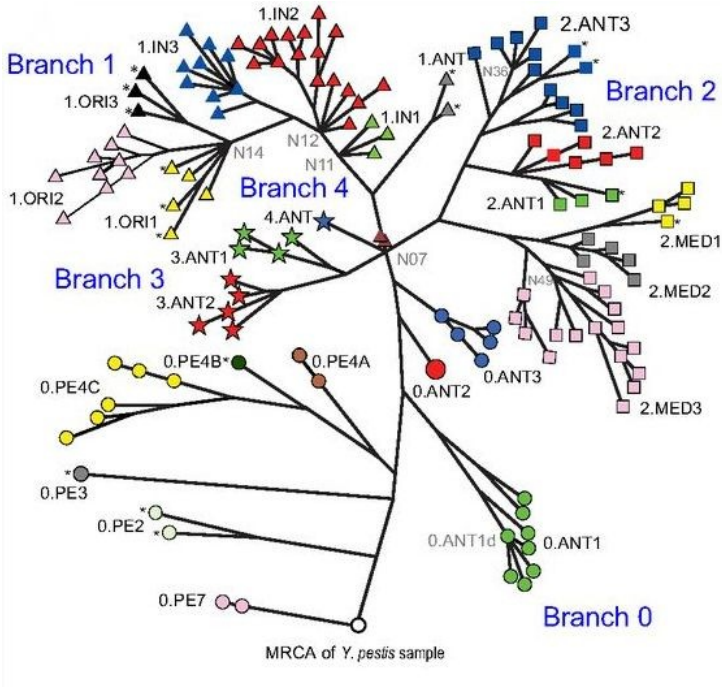


Рис. 3.3. *Филогенетическое дерево (по Cui Y., 2013). Нужно отметить, что в ходе накопления фактических данных оно может претерпевать изменения. Так, например, сформировались ветви 0.PE7, 3.ANT и 4.ANT, впервые показанные на представленном дереве, а ветвь 0.PE1 была перемещена со ствола в состав ветви 0.PE4. Однако тут ещё отсутствует ветвь 0.PE5 (улегейские штаммы), которая располагается между 0.PE4 и 0.ANT1*

4 ИМЕНА

По узкой тропе, извивающейся среди берёз, сосен и елей, человек в чёрном пальто попадает на вершину горы Кухавуо́ри. Перед его взором открывается дивная страна из множества небольших плато, образованных выходящими на поверхность островами из амфиболитов и кварцитов, пробивающих покров травы и мха, устланный коврами фиолетово-белых фиалок. Гора цветёт. Свежий горный воздух, пропитанный тонкими хвойными и цветочными ароматами, наполняет грудь. Здесь дышится легко и свободно. У подножия разливаются светло-голубые воды озера Айра́нне, на которых, рассыпанные бисером света, играют лучи вечернего солнца, а на противоположной стороне по обе стороны реки Ва́кко величественно раскинулся город Сортава́ла. Всё вокруг наполнено умиротворением и покоем. Где-то вдалеке слышатся хрустальные переливы ка́нтеле[1]. Вероятно это рунопе́вцы поют древние стихи эпоса «Калева́ла», на собрание которых врача Элиаса Лённрота[2] направила борьба с холерой. Или нет, то сам Вайнямёйнен[3] поёт ру́ны о древних деяниях. Вот он сидит перед самым обрывом: то ли старик с седой бородой, то ли муж в полном расцвете сил. Он ненадолго вернулся в Калевалу, страну древних карелов и край ребёнка Марья́тты[4], дабы предаться сладким воспоминаниям. Солнце клонится к горизонту, чтобы быть ближе к нему и, как и раньше[5], слушать его печальную прекрасную песнь под хрустальные переливы музыки. Он поёт о сотворении мира, о своём рождении, о под-

[1] Струнный щипковый инструмент, относящийся к типу цитры; близкий родственник эстонского каннеле и русских гуслей.

[2] Elias Lönnrot, 1802–1884; финский врач, фольклорист, собиратель карело-финского эпоса. Участник ликвидации эпидемии холеры в Финляндии.

[3] Главный герой карело-финского эпоса «Калева́ла», первочеловек, сын богини Ильмата́р, чародей и исполнитель рунических песен (рун) на кантеле.

[4] Согласно Руне 50 эпоса «Калевала», Марьятта зачала ребёнка, поев в лесу ягоды брусники. Вайнямёйнен предложил убить младенца, но тот стал упрекать его за жестокость. Поняв превосходство духовной силы младенца, Вайнямёйнен магией создал лодку и навсегда уплыл из Калевалы. Считается, что эта последняя руна (песнь) свидетельствует о смене карело-финского язычества христианством.

[5] Согласно Руне 47 эпоса «Калевала» из-за пленительной игры Вайнямёйнена солнце и луна спустились ниже к земле, чтобы слушать её, что помогло старухе Ло́ухи схватить их и заточить в скале.

вигах… Как бился за Са́мпо, как старуха Лоухи наслала детей богини болезней Ловьята́р на ещё его Калевалу. Песнь его протяжна; слышим: «[зван] восьмой – заразой чумной (*rutoksi*)»[1]…

Слово rutoksi (rutto, «чума») происходит от древнего карело-финского слова ruttotauti, что означает «быстрый», «быстро распространяющийся» и указывает на скорость распространения инфекции. Немецкое (die) Pest и итальянское peste (pestilenza) произошли от лат. pestis, давшего название возбудителю и означающее «зараза», «разрушение», что указывает на масштабы инфекции. Аварское «вабаъ» происходит от арабского وَبَاء (wabā), что означает «эпидемия». При этом арабское название болезни طاعون (taeun) происходит от классического сирийского ܛܥܘܢܐ (ṭāʿōnā) → ܛܥܢ (ṭʿen), что означает «нести», причём как в значении несения бремени, так и обычного переноса, что указывает на наличие переносчиков заболевания. Монгольское «тарбагану тахал» (чума тарбаганов) уже конкретно указывает на болезнь сурков-тарбаганов (*Marmota sibirica*), от контакта с которыми человек может заразиться. Тибетское བྱི་རིམས (jhi rim) означает «мышиная инфекция» (jhi – мышь, rim – букв. «один [человек] за другим»), что не просто указывает на возможность заражения от мышей, но и на инфекционную природу заболевания. Другой тибетский термин གཉན་སྦྱི་དུག་ནག་པོ། (nyen chi thuknagpo) означает «чёрный яд-ньен, пришедший извне», что примерно аналогично средневековому латинскому названию Atra mors, появившемуся во время второй пандемии, и указывает на септическую форму. Английское plague происходит от позднелатинского plaga и означает «удар», что указывает на характерное резкое повышение температуры. Наконец, привычное нам «чума» происходит от турецкого çuma, что означает «нарыв», «прыщ» и указывает на характерный симптом болезни – нарыв, или бубон.

Все эти названия отражают те особенности течения болезни, которые отмечали люди, а страх перед ней приводил даже к обожествлению. Так, в представлении литовцев, чума была богиней смерти Гильтине. То была красивая женщина, которую, однако, похоронили заживо. Выбравшись из могилы, она мстит людям: извлекая яд

[1] Ориг. карело-финск. «minkä syöjäksi sysäsi, kunka ruhtosi *rutoksi*» («Калевала», Руна 45; цит. по пер. Л. П. Бельского).

из трупов, она убивает им живых. У болгар есть предание, что старшей сестрой чумы была кошка, которая часто била её за непослушание и лень, поэтому чума убивает кошек, а в представлении украинцев чума живёт на севере, гонимая туда собаками за то, что отнимает у них голоса. Греки представляли её в виде слепой старухи в чёрном, держащей в руке летучую мышь, блуждающей по деревне, чтобы убить каждого, кого встретит. Японцы представляли в виде бакэ́-кузи́ра – призрака (ёка́й) в виде скелета-кита, появляющегося возле прибрежных китобойных деревень в тёмные дождливые ночи...

Вернёмся к арабскому, монгольскому и тибетскому названиям. Это крайне любопытно, поскольку долгое время считалось, что чуму переносят только блохи и крысы. Тут будет уместным сразу сделать оговорку и принять терминологию Юрия Михайловича Ра́лля[1], согласно которой под *«носителями» понимаются теплокровные животные, болеющие в природе чумой*, а под *«переносчиками» – блохи*[2]*, способные насасываться заражённой крови и передавать возбудитель животному-«носителю»*. При этом цепь, состоящую из возбудителя (*Y. pestis*), носителей (грызунов) и переносчиков (блох), принято именовать *триадой*.

Итак, со времён глубокой древности в качестве носителей были известны только мыши и крысы. В Библии находим, что во время эпидемии, сопровождающейся наростами (бубонами), в качестве жертвы повинности использовались изготовленные из золота бубоны и мыши (ср. 1 Цар. 6:4). В поэме «Багавата Пурана», написанной на санскрите, советуется оставлять свои жилища, как только крысы начнут падать с крыш и умирать, а в поэме «Смерть крыс», написанной китайским поэтом Ши Таоняном за несколько дней до смерти от чумы, находим, что «спустя несколько дней после гибели крыс люди падают, как обрушивающиеся стены». Однако иных носителей мир не знал (кроме монголов и тибетцев). Более того, монголы настолько хорошо знали опасность столкновения с боль-

[1] 1907–1965; советский (российский) зоолог, первым из зоологов противочумной системы СССР защитил докторскую диссертацию. Автор книги «Лекции по эпизоотологии чумы», которая отмечена в 1960 году Премией Академии наук СССР имени И. И. Мечникова.

[2] Следует оговориться, что редко в качестве переносчиков могут выступать другие эктопаразиты (чаще клещи).

ными тарбаганами, что выработали свод правил: увидев больных или уже умерших тарбаганов, должно сообщить об этом, чтобы никто к ним не прикасался, однако можно пасти стада и жить на этом месте.

Только в XIX веке Даниил Кириллович Заболо́тный[1], работая в Монголии и Китае, обратив внимание на эти правила и проведя собственные исследования, напишет: «Различные породы грызунов, по всей вероятности, представляют ту среду, на которой сохраняются чумные бактерии» (1899). Это мнение найдёт ярых противников, среди которых отметим У Ляньдэ́[2], который, принимая возможность спорадических (т. е. случайных) заражений тарбаганов, отрицал саму возможность их прямого участия в эпидемическом процессе, в частности, в качестве источников лёгочной формы чумы в Маньчжурии (эпидемия 1910–1911 годов). Впоследствии он поменял свою позицию, чему, вероятно, способствовала следующая история, не упомянуть о которой будет преступлением.

Осень 1912 года. Отряд Ипполи́та Александровича Деми́нского[3] приступил к изучению впавших в спячку сусликов. Препарируя одного из них (*Citellus pygmaeus*), выкопанного из норы в окрестности села Рахи́нки (левый берег реки Волги, Россия), врач смог выделить чумную культуру, заразившись при этом лёгочной формой чумы. Видя в произошедшем лишь научный эксперимент, он оставил подробные записи о ходе заболевания, а в телеграмме, направленной заведующему Астраханской противочумной лаборатории Николаю Николаевичу Клодни́цкому[4], сообщил: «Я заразился от сусликов лёгочной чумой. Приезжайте, возьмите добытые культуры. Записи все в порядке. Остальное всё расскажет лаборатория. Труп мой вскройте как случай экспериментального заражения че-

[1] 1866–1929; украинский и советский врач, бактериолог, эпидемиолог. Академик (1922) и президент (1928–1929) Всеукраинской академии наук. Академик Академии наук СССР (1929). Основал первую в мире кафедру эпидемиологии (1920). Автор работ по чуме, холере и иным инфекционным болезням.

[2] 伍連德 (*Ву Льянде*), 1879–1960; малайский врач китайского происхождения, эпидемиолог. Номинант Нобелевской премии по физиологии или медицине (1953). Первый студент – этнический китаец, окончивший Кембриджский университет. Внёс существенный вклад в ликвидацию Маньчжурской эпидемии чумы (1910–1911).

[3] 1864–1912; российский врач, бактериолог, эпидемиолог.

[4] 1868–1939; белорусский и советский врач, бактериолог, эпидемиолог.

ловека от сусликов. Прощайте. Деминский». Через 3 дня учёный скончался.

Ему, а также другим врачам, поэт Константин Михайлович Си́монов впоследствии посвятит эти строки:

Всю жизнь лечиться люди шли к нему,
Всю жизнь он смерть преследовал жестоко
И умер, сам себе привив чуму,
Последний опыт кончив раньше срока.

Открытие Даниила Кирилловича Заболотного, подкреплённое трагической смертью Ипполита Александровича Деминского, имело мировое значение, положив начало эпизоотологии и теории природной очаговости чумы. Не умаляя подвига этих двух врачей, справедливости лишь ради отметим, что ещё в 1898 году По́ль-Луи́ Симо́н[1], работая в Индии, установил[2] возможность заболевания чумой пальмовых белок (*Funambulus palmarum*). Однако его открытие осталось незамеченным.

Подводя итог сказанного, следует заключить, что чума является *природно-очаговой инфекцией*. Мы видели, что её распространение может начаться как в дикой природе, так и в портовом городе. Именно поэтому все очаги принято разделять на собственно *природные* (их ещё называют очаги «дикой» чумы) и *антропургические* (с греч. «[связанные с] человеческой деятельностью») или синантропные. При этом последние, как отмечал Игорь Валерианович Домарадский, следует считать скорее эфемерными, поскольку они возникают в случае заноса заражённого носителя или переносчика и обычно достаточно быстро выявляются и ликвидируются человеком. Поэтому, когда мы говорим о санитарном надзоре за очагом чумы, то в первую очередь имеем в виду именно очаг «дикой» чумы, заключённый в чётких территориальных границах. Все эти очаги умещаются на сравнительно большой территории (так называе-

[1] Paul-Louis Simond, 1858–1947; французский врач, бактериолог, ботаник. Директор Института Пастера в Сайгоне (1898–1901). Доказал роль блох в передаче бубонной чумы.

[2] Simond P. *La propagation de la Peste.* Ann Inst Past (Paris). 1898; 12(10):625–687.

мая «zona pestica»[1]): в северном полушарии они простираются южнее 50° северной широты, а в южном достигают крайних пределов материков, за исключением Австралии (с островом Новая Зеландия) и Антарктиды.

В предыдущей главе мы говорили о пандемиях, в результате которых чума распространялась на большие территории, однако чаще всего не закреплялась на них и «уходила» назад в границы природных очагов. Вместе с тем существование очагов в Северной Америке обусловлено проникновением возбудителя во время третьей пандемии морскими путями с помощью крыс и последующим образованием новых (т. н. заносных) очагов, но не на всей территории, а только западнее 98° западной долготы. Можно было бы предположить, что границу определяет ареал обитания носителей (грызунов), но это не совсем так. Исследования показывают, что отличительной особенностью этих очагов является высокая засушливость и засоленность почв, то есть данные два показателя также являются важными детерминантами существования очагов и их границ. Среди других показателей выделяют текстуру почвы, содержание минералов и pH. Интересно, что природные очаги Северной Африки располагаются на расстоянии менее 3 километров от побережья Средиземного моря и края чоттов (солёных озёр), при этом чумной микроб в виде L-форм (т. е. в данном случае бактерии с тонкой клеточной стенкой; подробнее в Главе 30) выделяется из почв, содержащих до 70 г/*л* хлорида натрия. Опыты[2] показывают, что чумной микроб способен выживать в концентрации до 150 г/*л* хлорида натрия!

Вносит свой вклад и изменение климата: потепление приводит к увеличению популяции носителя и, как следствие, расширению природного очага. Так, расширение ареала большой песчанки (*Rhombomys opimus*) привело к увеличению площади Северо-Приаральского и Кызылкумского пустынных очагов чумы (Казахстан) на 29,2% и 0,4% соответственно. Однако важную роль в этом

[1] Термин предложен в 1944 году Юрием Михайловичем Раллем. В 1959 году Борис Константинович Фенюк предложил использовать термин «зона природной или дикой очаговости чумы».

[2] Malek M. A., Bitam I., et al. *Yersinia pestis halotolerance illuminates plague reservoirs*. Sci Rep. 2017; 7:40022; DOI: 10.1038/srep40022.

процессе также сыграли регрессия Аральского моря (Казахстан) и нарастание промышленного освоения территорий – строительство железнодорожной ветки Жезказган – Бейнеу, нефтегазовых магистралей и прочее. Всё это подводит нас к мысли о важной роли природных ландшафтов в формировании очагов. Ещё в 1930 году Николай Акимович Га́йский[1] писал: «Суслики, будучи распространены далеко за пределами эндемического края [т. е. природного очага. – *Примеч. автора*], становятся опасными в отношении чумы в условиях строго определённого "географического ландшафта", понимая под этим всю сумму условий, т. е. географическое положение местности, климата, почв, растительного и животного мира».

Для природных очагов чумы также характерно многократное чередование процессов *эпизоотии*, под которой понимается *процесс непрерывного взаимодействия популяции возбудителя с популяциями его носителей («естественных хозяев») и внешней средой, который обеспечивает существование возбудителя на данной территории*. Эпизоотический процесс начинается с накопления возбудителя, что сопровождается единичными случаями заболевания носителей (фаза 1). Затем наступает острая (интенсивная) эпизоотия, сопровождающаяся включением в инфекционный процесс большого количества носителей, что может приводить к массовой гибели животных (≥ 90%) – очаг «горит» (фаза 2). В это время возможно стремительное распространение инфекции внутри территории очага, в том числе в виде образования микроочагов. Далее происходит затухание, обусловленное высокой иммунной прослойкой среди носителей при сравнительно высокой численности блох (фаза 3). В этот период, как правило, появляются атипичные (авирулентные и слабовирулентные) штаммы. Наконец, наступает межэпизоотический период (фаза 4), сопровождающийся полным покоем (отсутствием не только падежа носителей, но и выявления возбудителя), который может длиться много лет. Так, межэпизоотический период у

[1] 1884–1947; российский и советский врач, бактериолог, эпизоотолог, создатель туляремийной вакцины (Га́йского – Эльберта), лауреат Сталинской премии. В 1931 году, будучи заведующим противочумной лабораторией, приговорён к 5 годам лишения свободы; реабилитирован в 1960 году. По свидетельству Е. И. Демиховского, причиной приговора стала необходимость заставить учёного (как и многих других) заниматься разработкой бактериологического оружия в стенах секретной военной лаборатории, располагавшейся в одном из монастырей города Суздаль (Россия).

очага в районе посёлка Гулже́нга (Забайкалье, Россия) длился с 1947 по 1960 год, а многолетнее исследование различных носителей (около 300 тысяч!) в этот период давало отрицательные результаты.

До настоящего времени до конца не установлено, каким образом чумной микроб сохраняется в межэпизоотический период. Одни исследователи выдвигают версию, что он сохраняется в латентной форме в почве («теллурическая чума»)[1], проникая туда из трупов носителей. Поскольку *Y. pestis* не образует спор, то речь идёт, конечно же, о сохранении в некультивируемой форме (подробнее о ней в Главе 30), что объясняет отсутствие инфекционного процесса и выявления возбудителя при обследовании очагов. Другие учёные выдвигают версию о переходе в сапрофитное состояние, что видится сложным ввиду потребности чумного микроба в некоторых аминокислотах (ауксотрофность), хотя прототрофные штаммы известны науке. Говорят и о персистенции (сохранении) возбудителя в растениях [2] и почвенных простейших, в частности, в амёбах (Рис. 4.1)[3]. И это особенно важно, поскольку амёбы, повсеместно присутствующие в почвах очагов, способны выживать при неблагоприятных условиях окружающей среды и могут переноситься ветром и водой на значительные расстояния, при этом они лизируются при температуре 37 °С, то есть высвобождают свой «груз», попадая в раны или с пищей внутрь животных и человека. Опыт[4] культивирования с акантамёбами, выделенными из Горно-Алтайского высокогорного очага (российская часть трансграничного Сайлюгемского очага), показал выживаемость чумного микроба без дополни-

[1] Имеются сведения о сохранении в почве до года (см. Mollaret H. H. *Experimental Preservation of Plague in Soil*. Bull Soc Pathol Exot Filiales. 1963; 56:1168–1182).

[2] Некоторые монгольские народы верили, что возбудитель чумы живёт в корневищах растения хун-убусун (досл. «человек-трава»). Следует отметить, что опытным путём была продемонстрирована возможность сохранения *Y. pseudotuberculosis* в стеблевых и листовых тканях картофеля, в которые возбудитель проникал через корневую систему (см. Маркова Ю. А., Романенко А. С., и др. *Взаимодействие Yersinia pseudotuberculosis с пробирочными растениями картофеля*. J Sress Physiol Biochem. 2006; 2(1):21–27).

[3] Это особенно интересно, поскольку амёбные структуры синонимичны макрофагам человека.

[4] Макашова М. А., Оглодин Е. Г., и др. *Длительное сохранение Yersinia pestis в ассоциации с Acanthamoeba castellanii в эксперименте*. Проблемы особо опасных инфекций. 2022; 4:82–89; DOI: 10.21055/0370-1069-2022-4-82-89.

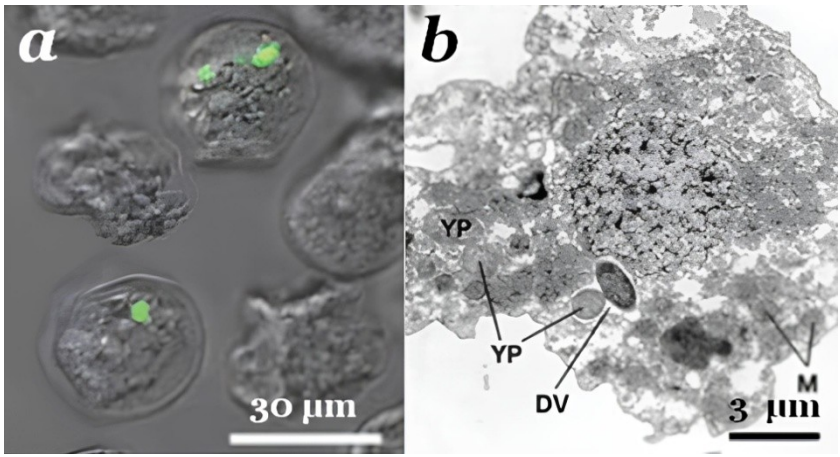


Рис. 4.1. *Y. pestis в амёбе Acanthamoeba castellanii (по Markman D. W., 2018): a – флуоресцентная конфокальная микроскопия (чумной микроб флуоресцирует зелёным); b – трансмиссионная электронная микроскопия (24-часовое сокультивирование; YP – чумной микроб, DV – пищеварительная вакуоль, M – митохондрии)*

тельных питательных веществ на протяжении 22 месяцев! Наконец, третьи утверждают, что он сохраняется в составе биоплёнки на по поверхности нематод или в желудках блох. Имеются сообщения о сохранении в водопроводной воде до 16 дней[1] и в бутилированной до 100 дней[2]. Интересно мнение, что межэпизоотического периода вообще нет, а эпизоотический процесс пульсирует и перемещается в пространстве. Так или иначе, всё это неизбежно приводит нас к пониманию того, что процессы, протекающие в очагах, гораздо сложнее простого взаимоотношения носитель – переносчик – носитель.

Для каждого конкретного очага характерно наличие «собственного» носителя (см. Дополнительные материалы). Если он один, то очаг, согласно терминологии Евгения Никаноровича Павло́вского[3],

[1] Wilm *Hygeien Rundschau*. 1897; 7:285–300.

[2] Torosian S. D., Regan P. M., et al. *Detection of Yersinia pestis over time in seeded bottled water samples by cultivation on heart infusion agar*. Can J Microbiol. 2009; 55(9):1125–1129; DOI: 10.1139/w09-061.

[3] 1884–1965; советский (российский) врач, паразитолог, зоолог, энтомолог, основатель советской школы паразитологии, ввёл понятие «природная очаговость».

именуется *моногостальным*. Так, основным носителем Прибалхашского пустынного очага (Казахстан) является большая песчанка (*Rhombomys opimus*), тогда как соседствующий с ней и часто живущий в её норах ушастый ёж (*Hemiechinus auritus*) не играет роли в эпизоотии (хотя единичные случаи заражения всё же случаются). Поэтому моногостальные очаги ещё именуют по носителю: сурковые очаги, сусликовые очаги, полёвочьи очаги и так далее. Для каждого такого очага характерны свои особенности. Например, для Тянь-Шанского высокогорного очага (Киргизия) важной особенностью является наличие так называемых элементарных очагов[1], располагающихся в глубоких тёплых норах основного носителя – серого сурка (*Marmota baibacina*), чья высокая активность в летний период сопровождается посещением большого количества нор. Заражение сурков происходит исключительно в них, поскольку в условиях холодного климата высокогорья именно глубокие норы сохраняют постоянную температуру и высокую влажность, что обуславливает способность сурочьих эктопаразитов (блох видов *Oropsylla silantiewi* и *Rhadinopsylla li ventricosa*) длительное время сохранять инфекционную способность. Кроме того, низкие температуры способствуют сохранению чумного микроба и в организме сурка, охлаждая его (организм) во время зимней спячки.

Наряду с моногостальными существуют *полигостальные* очаги, на территории которых обитает несколько (как правило, два-три) основных носителей. Так, основными носителями Волго-Уральского песчаного очага (Россия) являются гребенщиковая песчанка (*Meriones tamariscinus*) и полуденная песчанка (*Meriones meridianus*).

Важно понимать, что вид, играющий основную роль в эпизоотии одного очага, может играть второстепенную в эпизоотии другого. В качестве примера приведём длиннохвостого суслика (*Citellus undulatus*), который является основным носителем для Тувинского горного очага (Россия), но второстепенным для Яру-Богдынского очага (Монголия).

Академик Академии наук СССР и Академии медицинских наук СССР. Герой Социалистического труда.

[1] То есть мест непосредственного пребывания в природном очаге заражённых носителей и (или) переносчиков (нора, пещера с заражёнными блохами и т. п.).



Монгольская пищуха



Желтобрюхие сурки

Согласно эпизоотологическому разделению, предложенному Борисом Константиновичем Фенюкóм[1], все носители подразделяются на *основных* и *второстепенных*. Вторые, в свою очередь, подразделяются на *случайных* (временных) и *факультативных* (дополнительных).

Характерной особенностью основных носителей является их высокая и относительно стабильная численность. Они принадлежат к пустынно-степным формам и широко распространены в областях сухих степей и пустынь. Их норы глубоки и являются прекрасным местом для размножения блох. К числу основных носителей чумы отнесено огромное количество видов, среди которых отметим малого суслика (*Spermophilus pygmaeus*), большую песчанку (*Rhombomys opimus*), полуденную песчанку (*Meriones meridianus*), краснохвостую песчанку (*Meriones lybicus*), серого сурка (*Marmota baibacina*), тарбагана (*Marmota sibirica*), крыс (род *Rattus*), опоссумов (род *Didelphis*), морских свинок (род *Cavia*), кроликов (род *Sylvilagus*).

Характерной особенностью второстепенных носителей является их крайне неустойчивая численность (от вспышек до почти полного исчезновения). Их норы неглубоки, а блохи недолговечны. Вместе с тем в период вспышки численности они могут вовлекаться в эпизоотию, представляя огромную опасность для человека, но поддерживать её без основных носителей они не способны. В качестве представителей второстепенных носителей отметим домовую мышь (*Mus musculus*), четырёхполосную травяную мышь (*Rhabdomys pumilio*).

Жёлтый суслик (*Spermophilus fulvus*) является классическим примером факультативного второстепенного носителя, поскольку, вовлекаясь в эпизоотию наряду с основным носителем, малым сусликом (*Spermophilus pygmaeus*), он не способен поддерживать эпизоотию постоянно ввиду малочисленности и разреженности в пространстве. С другой стороны, в Африке и на Аравийском полуострове, где природные очаги нередко граничат с людскими поселе-

[1] 1902–1969; российский и советский зоолог. Лауреат Сталинской премии (часть денег передал супруге Вере Александровне Артисе́вич на строительство библиотеки Саратовского университета). Автор книги «Перспективы борьбы с чумой в будущем» (1968), которая была издана Всемирной организацией здравоохранения на английском языке.

ниями, носителями могут быть свиньи, коровы и даже верблюды, которые выступают в качестве случайных второстепенных носителей, то есть тех, которые способны заражаться и болеть, но не играют никакой роли в эпизоотии.

Некоторые из второстепенных носителей могут быть основными для антропургических очагов. Вспомним, что основным носителем во время первой и второй пандемии была крыса (при этом для природного очага она случайный носитель). С другой стороны, носителем в антропургическом очаге могут быть любые сельскохозяйственные и домашние животные, если они восприимчивы к чуме. Верблюды, сайгаки, овцы, в частности, тибетская овца (*Ovis aries*), вполне могут быть носителями инфекции, их мясо и молоко в отсутствие должной термической обработки, а также сам процесс забоя могут представлять опасность для человека. С другой стороны, такие крупные животные, как лошади, слоны, буйволы и олени, имеют достаточный иммунитет к чуме, и их заражение возможно только путём искусственного «накачивания» высокими дозами возбудителя.

Интересно, что среди грызунов также встречаются резистентные к чумному микробу виды и особи. Второе представляет особенный интерес: так полуденные песчанки (*Meriones meridianus*), обитающие на левом берегу реки Волги (левобережные), невосприимчивы к чуме, чего не скажешь об их высоковосприимчивых сородичах, обитающих, например, на правом берегу (правобережные). Исследования[1] показали, что причиной этого является разница в содержании 2,3-дифосфоглицериновой кислоты и фосфора в эритроцитах, а также Ca^{2+} в сыворотке и плазме крови: у первых оно достоверно ниже, что и обуславливает их резистентность (напомним, что полуденных песчанок относят к основным носителям).

---

[1] Смирнова Е. Б., Аванян Л. А. *Содержание 2,3-дифосфоглицериновой кислоты в эритроцитах чувствительных и резистентных к чуме полуденных песчанок*, в сборн. *Патологическая физиология особо опасных инфекций (Труды противочумных учреждений).* Саратов: Всесоюзный ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», 1981, 184 с.; Чурикова Н. В., Семененко Р. Д., и др. *Содержание Ca^{2+} в сыворотке и плазме крови полуденных песчанок с различной резистентностью к микробу чумы*, в сборн. *Микробиология и биохимия особо опасных инфекций (Труды противочумных учреждений).* Саратов: Всесоюзный ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», 1988, 104 с.

Отдельно стоит поговорить о домашних животных. Собаки сами по себе мало восприимчивы к чуме (болеют в лёгкой, чаще скрытой форме), но представляют эпидемиологическую опасность для человека в том смысле, что могут приносить на себе заражённых блох (однако, нужно помнить о редких случаях развития первичной лёгочной формы, о которых подробно поговорим в Главе 8).

Кошки, эти любимые многими пушистые урчащие комочки счастья, наоборот, крайне восприимчивы к чуме (вспомним болгарское поверье, за что чума мстит кошкам) и способны заразить человека, например, через укусы, фекалии и выдыхаемый аэрозоль (в 10 % случаев). Бубонная форма чумы у кошек возникает как вследствие укуса блохи (тогда поражаются дистальные лимфатические узлы), так и через раны в ротовой полости и межзубные щели во время проглатывания инфицированного мяса (поражаются подчелюстные и шейные лимфатические узлы, а также миндалины). В результате дальнейшего попадания в кровь и распространения инфекции возможен занос в лёгкие с развитием вторичной лёгочной формы. При прямом вдыхании возбудителя из полости рта или вдыхании чумного аэрозоля (от больного лёгочной формой) возможно развитие первичной лёгочной формы. Кроме того, кошки могут реализовать аэрогенный механизм передачи инфекции (как и человек). Вполне вероятно, что кошки как основные борцы с грызунами во время эпидемий чумы[1] вносили важный вклад в её распространение.

[1] В Средневековье за убитую крысу полагалась награда, но она была так мала, что не оправдывала риска заражения. Интересно, что спустя много лет неофициальным девизом так называемых туннельных крыс (подразделений вооружённых сил США, Австралии и Новой Зеландии, действующих во время Вьетнамской войны в подземных туннелях, вырытых вьетнамскими партизанами) был «Non Gratum Anus Rodentum» (англ. «Not Worth a Rat's Ass»), что следует перевести как «не стоит и крысиной задницы».

5 БЛОХА ХЕОПСА

Вот в золото и бархат блоха наряжена,
И полная свобода ей при дворе дана…[1]
Иоганн Вольфганг фон Гёте. Фауст



Препарат блохи X. cheopis (препарат Ротшильда)

В долгом споре о том, что было раньше, курица или яйцо, однозначно в данном случае ответим: яйцо. И это яйцо, материнской любви не познавшее, поскольку, будучи всего одним из нескольких десятков отложенных яиц, упало в небольшую щель, где вылупилось и существовало личинкой, поедая мёртвые клетки кожи да экскременты сородичей. Но вот настал момент метаморфоза, когда невзрачная личинка превратилась… Нет, не в бабочку – в блоху. И жила та блоха, ведя размеренную блошиную жизнь. На завтрак, обед и ужин она лакомилась кровью мелких млекопитающих, в основном грызунов. И всё было бы буднично и однообразно, если бы однажды где-то в Судане её не нашёл Натани́эль Чарльз Ро́тшильд[2], банкир и по совместительству гениальный энтомолог, что, открыв в ней новый вид[3], впервые за всю её блошиную жизнь отнёсся к ней уважительно, дав ей имя *Pulex cheopis*[4] в честь знаменитой пирамиды. И знал ли фараон Ху́фу (Хео́пс), что спустя столько лет его величайшая пирамида и маленькая блоха будут одинаково значимы в глазах человечества?

[1] Цит. по пер. А. Н. Струговщикова.

[2] Nathaniel Charles Rothschild, 1877–1923; английский банкир и энтомолог; собрал большую энтомологическую коллекцию. Страдая от энцефалита, совершил самоубийство в возрасте 46 лет.

[3] Rothschild N. C. *New species of Siphonaptera from Egypt and the Sudan (with two plates).* The Entomologist's monthly magazine. 1903; 39(2):83–87.

[4] Впоследствии была переименована в *Xenopsylla cheopis* (Glinkiewicz, 1907) с включением в соответствующий род.

В предыдущих главах мы довольно много говорили о роли блох как в эпизоотии, так и распространении чумного микроба через заражение млекопитающих, в том числе человека. И хотя каждой блохе присущи свои хозяева (хоть это и не строго специфично)[1] и свой ареал обитания, механизм передачи чумного микроба от одного носителя другому в целом похож, поэтому остановимся на нём подробнее. Процесс насасывания крови длится от одной минуты до нескольких часов и различается в зависимости от вида. Так, *Xenopsylla cheopis* насасывает кровь с избытком, в то время как *Ctenocephalides felis* насасывает немного, но часто. Вместе с тем механизм насасывания у всех сводится к работе двух насосов (цибариальному и фарингиальному), которые сокращаются один за другим, чтобы протолкнуть порцию крови через пищевод к преджелудку и далее в желудок, именуемый средней кишкой (Рис. 5.1). Между порциями крови преджелудок остаётся плотно закрытым клапаном. Однако поскольку во время насасывания он постоянно открывается и закрывается, то часть крови из средней кишки может регургитировать в преджелудок. Там под действием мышиного токсина, о котором мы говорили ранее, и продуктов хромосомных **генов запасания гемина** (*hms, от англ.* ***hem****ine* ***s****torage [gene]*)[2], белков аккумуляции гемина, реализуется то, что принято называть *блокадой*.

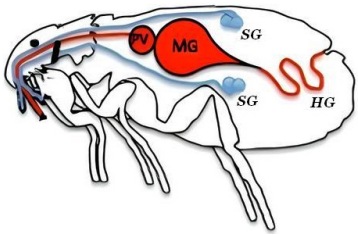


Рис. 5.1. *Схема анатомии блохи: PV – преджелудок, MG – желудок (средняя кишка), SG – слюнные железы, HG – задняя кишка*

[1] Уже упоминалось, что, например, *Pulex irritans* паразитирует на человеке, а *Xenopsylla cheopis* – на грызунах. Блоха *Ctenocephalides felis* – на кошках, *Cediopsylla spillmannii* – на американских кроликах рода *Sylvilagus* (сведения о переносчиках в природных очагах см. в Приложениях).

[2] Присутствуют у всех йерсиний на так называемой хромосомной области пигментации (различаются единичными нуклеотидными заменами). Получили своё название из-за способности сорбировать кислые красители и гемин.

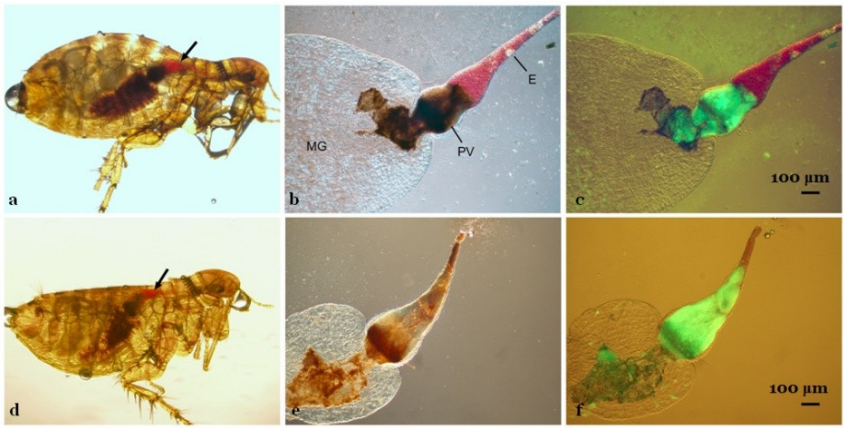


Рис. 5.2. *Блокада преджелудка блохи Oropsylla montana (по Hinnebusch B. J., 2017): a и d – блокированная блоха, женская (a) и мужская (d) особи (стрелкой указана свежая кровь, которая не может попасть в желудок); b и e – рассечение пищеварительного тракта (дифференциальная интерференционно-контрастная микроскопия; E – свежая кровь, PV – желудок с блокированным преджелудком, MG – средняя кишка); c и f – комбинация (b и e) с флуоресцентной микроскопией*

Впервые механизм блокады преджелудка блохи был описан[1] в 1914 году Артуром Уильямом Бэ́котом[2] и Чарльзом Джеймсом Ма́ртином[3]. Учёные обнаружили, что *Y. pestis* росла в виде больших скоплений в средней кишке инфицированных блох. Более того, у некоторых блох бактериальные скопления также развивались в просвете преджелудка, что, по их мнению, имеет решающее значение для дальнейшей эффективной передачи бактерии носителю (Рис. 5.2 и Рис. 5.3).

[1] Bacot A. W., Martin C. J. *LXVII. Observations on the mechanism of the transmission of plague by fleas.* J Hygiene (Lond). 1914; 13:423–439; Bacot A. W. *Further notes on the mechanism of the transmission of plague by fleas*. J Hygiene (Lond). 1915; 14:774–776.

[2] Arthur William Bacot, 1866–1922; британский энтомолог, изучавший патогенез чумы у блох. Занимался изучением вшей и их связи с окопной лихорадкой (возбудитель: *Bartonella quintana,* ранее *Rickettsia quintana*) и сыпным тифом (возбудитель: *Rickettsia provazekii*). Умер, заразившись последним.

[3] Sir Charles James Martin, 1866–1955; британский врач, физиолог, член Лондонского королевского общества. Директор Института профилактической медицины им. Дж. Листера (1903–1930). Автор работ по змеиным токсинам, эпидемиологии.

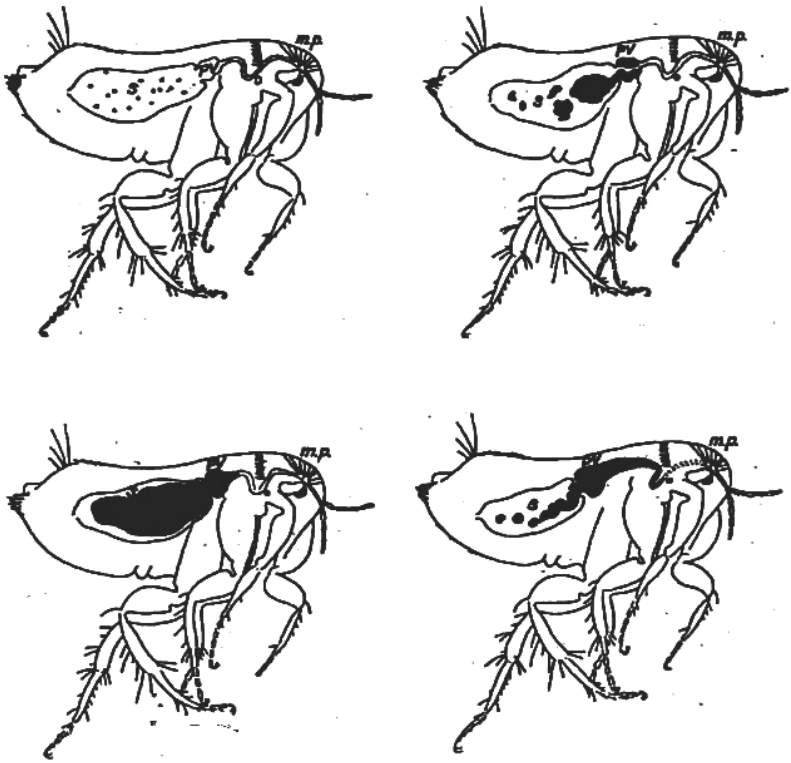


Рис. 5.3. *Классический рисунок процесса формирования блока в преджелудке блох (по Bacot A. W., Martin C. J., 1914; публикуется с разрешения The Cambridge University Press)*

В вопросе механизма блокировки довольно долгое время господствовала так называемая *коагулазная модель*, которая отводила центральную роль **активатору плазминогена**, кодируемому плазмидой pPla. Хотя быстрая активация плазминогена приводит к разрушению сгустков фибрина при 37°C, при более низкой температуре, которая свойственна кишечнику блох, наоборот, наблюдается тромбообразующая и плазмакоагулазная активности, поэтому *Y. pestis*, обволакиваясь и размножаясь внутри фибринового сгустка, залегает среди шипиков преджелудка, разрастаясь до полноценного блока. При всей кажущейся логичности этой модели она вступает в противоречие, например, с тем фактом, что штаммы, не синте-

зирующие активатор плазминогена (т. е. Pla-негативные штаммы; пишут «Pla⁻»)[1], также способны блокировать блоху *Xenopsylla cheopis*. Поэтому на смену этой модели пришла новая, получившая название *биоплёночная*. Как уже говорилось ранее, мышиный токсин способствует выживанию бактерии в средней кишке от бактерицидных продуктов распада эритроцитов. При этом снижение температуры запускает продукцию регулятора транскрипции RovM, стимулирующего синтез продуктов генов *hms* (белков HmsH и HmsF во внешней мембране и белков HmsR, HmsS, HmsT и HmsP во внутренней мембраны), то есть образование внеклеточного матрикса, который, в свою очередь, окружает плотную микроколонию бактерий по мере их роста, образуя биоплёнку. Кроме того, вклад в образование биоплёнки вносит синтезируемый в ответ на кислую среду кишечника порин OmpF. Сформированная биоплёнка усиливает агрегацию бактерий на поверхности шипиков преджелудка (Рис. 5.4), приводя к его блокированию.

Далее, блохи достаточно быстро погибают (через 5–10 суток), причиной чему служат голод и нарушение функции органов, стеснённых раздувшимся преджелудком. В это время блоха и выступает в роли активного переносчика[2], поскольку каждая поступающая порция крови оказывается регургитирована назад в млекопитающего, неся в себе чумные микробы. При этом, поскольку при насасывании порция составляет 0,1–0,3 мкл, помним, что для заражения блохи требуется, чтобы *бактериемия у носителя составляла не менее 10^6 КОЕ/мл*.

Интересно, что у *Y. pseudotuberculosis* (как и у всех представителей рода *Yersinia*) также имеются гены *hms*, но опыты показывают, что они не придают бактерии способности образовывать биоплёнку и с её помощью блокировать блох. Но и у чумного микроба этот процесс неоднороден. Так, штамм KIM6+ (2.MED) демонстрирует колонизацию не только преджелудка, но всей длины пищевода (Рис. 5.5)! Однако близость к ротовым частям блохи в этом случае не приводит к более высокой эффективности регургитативной передачи.

---

[1] В обратной ситуации штамм называют Pla-позитивным или Pla⁺.

[2] «Пассивным» переносчиком будет являться блоха, употреблённая в пищу носителем.



Рис. 5.4. *Колонизация бактериями (показаны жёлтым) шипиков преджелудка блохи, сканирующая электронная микроскопия (цветное изображение, созданное Национальным институтом аллергии и инфекционных заболеваний)*

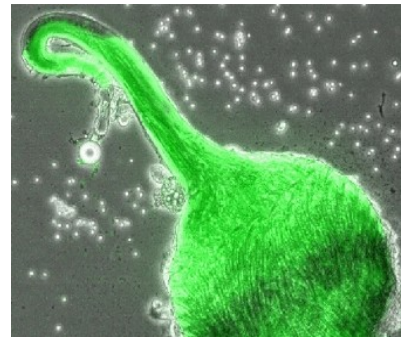


Рис. 5.5. *Колонизация всей длины пищевода штаммом KIM6+ (по Lemon A., 2020)*

В противоположность сказанному, возможна реализация альтернативного механизма, поскольку не все блохи подвергаются блокированию, а у некоторых оно реализуется частично. Сообщается, что блок возникает у *Xenopsylla cheopis* только в 60% случаев, у *Oropsylla montana* – в 25% случаев, а у блох *Frontopsylla semura*, паразитирующих на горных сусликах, только в 3% случаев! Тем не менее уже члены Индийской комиссии по исследованию чумы в 1907 году показали[1] возможность заражения млекопитающих такими блохами, назвав это *ранней фазой передачи*, что подтверждает предположение Артура Уильяма Бэ́кота о том, что образование чумного блока (*поздняя фаза передачи*) не является единственным способом передачи бактерий блохами. Конечно, одна незаблокированная блоха, у которой почти вся порция крови попала в желудок и среднюю кишку при почти полном отсутствии регургитации (мешает закрытый клапан желудка), не способна заразить млекопитающее через укус, но для 10–25 блох скорость передачи уже составит около 70%. И поскольку такой способ передачи требует участия множества блох, его также называют *массовой передачей*. Кроме того, реали-

[1] *Indian Plague Research Commission. Further observations on the transmission of plague by fleas, with special reference to the fate of the plague bacillus in the body of the rat flea (P. cheopis).* J Hygiene (Lond). 1907; 7:395–360.

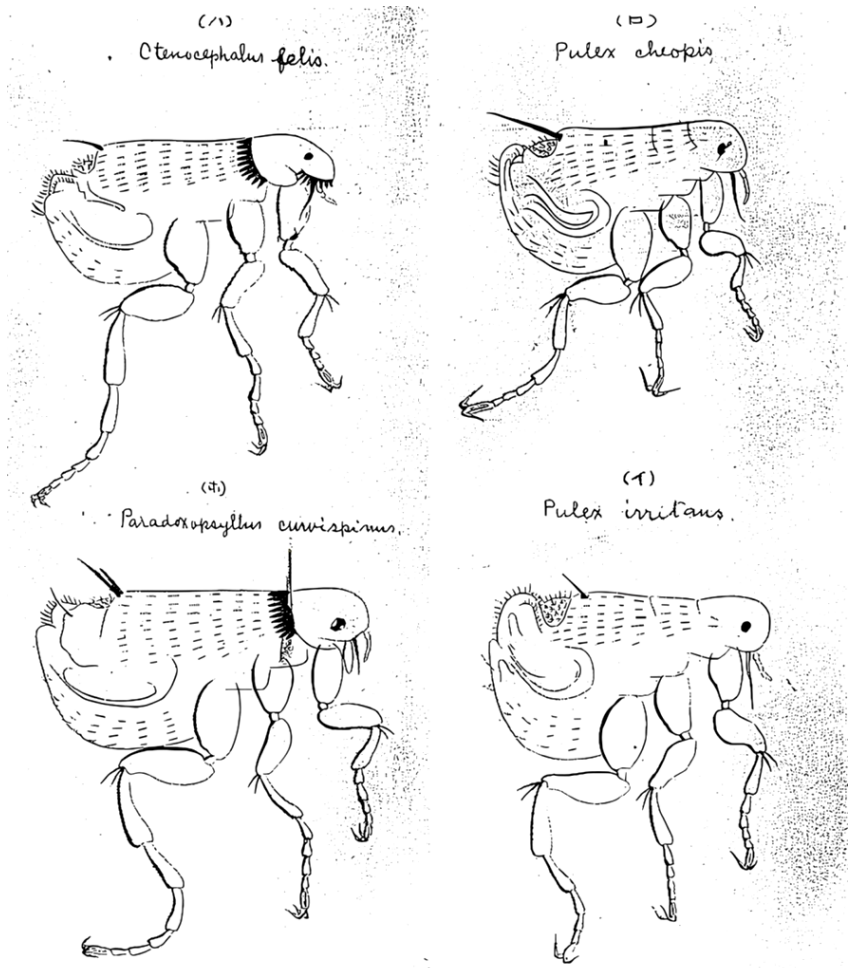


Рисунок блох, отловленных во время эпидемии чумы на острове Авадзи (Япония), выполненный Китасато Сибасабуро (по 北里柴三郎, *1909)*

зация такого вида передачи зависит от температуры, прекращаясь при 10°C, что указывает на некоторую протективную функцию блока, поскольку блокированные блохи передают инфекцию во всём диапазоне температур (при 27–30°C она несколько снижена). Конечно, ранняя передача менее эффективна, однако она тоже играет важную роль в эпизоотическом процессе, поскольку образование блока занимает время, а также способствует гибели до поло-

вины всех заражённых блох. Можно предположить, что млекопитающие также могут заражаться от умерших блох алиментарным путём, употребляя их в пищу.

Подводя итог сказанному, следует поговорить об эпидемиологии. На Рис. 5.6 кратко показаны основные пути и механизмы передачи инфекции. Как уже говорилось ранее, чума «обитает» в природных очагах и существует в них в рамках эпизоотического процесса (чёрный пунктирный круг), однако возможен «выход» из него, например, при миграции грызунов[1] и паразитирующих на них блох во время голода, как это было во время первой пандемии. Также возможно попадание заражённой блохи на домашних и сельскохозяйственных животных с последующим их заражением при близком расположении очага с жилыми постройками. В основном такой путь реализуется в странах Северной и Южной Америки и Африки. Для сохранения очага в природных границах осуществляется комплекс мероприятий, возглавляемых в некоторых странах так называемой противочумной службой. Среди мероприятий отметим слежение за эпизоотическими проявлениями чумы (включая отлов животных и взятие проб окружающей среды для микробиологической индикации возбудителя), а также проведение профилактических и противоэпидемических мероприятий, включающих снижение численности (истребление) носителей и блох (вспомним: для прекращения распространения инфекции нужно разрушение хотя бы одного звена эпидемиологической цепочки).

Основной способ распространения инфекции (**красные жирные стрелки**) обеспечивается *трансмиссивным механизмом*, когда блоха, насосавшись крови от инфицированного носителя, кусает другого носителя или человека, при этом инфицированная кровь от блохи попадает в кровь укушенного. Может также реализовываться непосредственно при укусе инфицированного носителя, например, грызуна или кошки (красные пунктирные стрелки).

Остальные способы следует считать второстепенными.

Контактный механизм (чёрные сплошные стрелки) реализует передачу инфекции через контаминированные предметы, такие как

[1] Большой тушканчик (*Allactaga major*) способен развивать скорость до 50 км/ч!

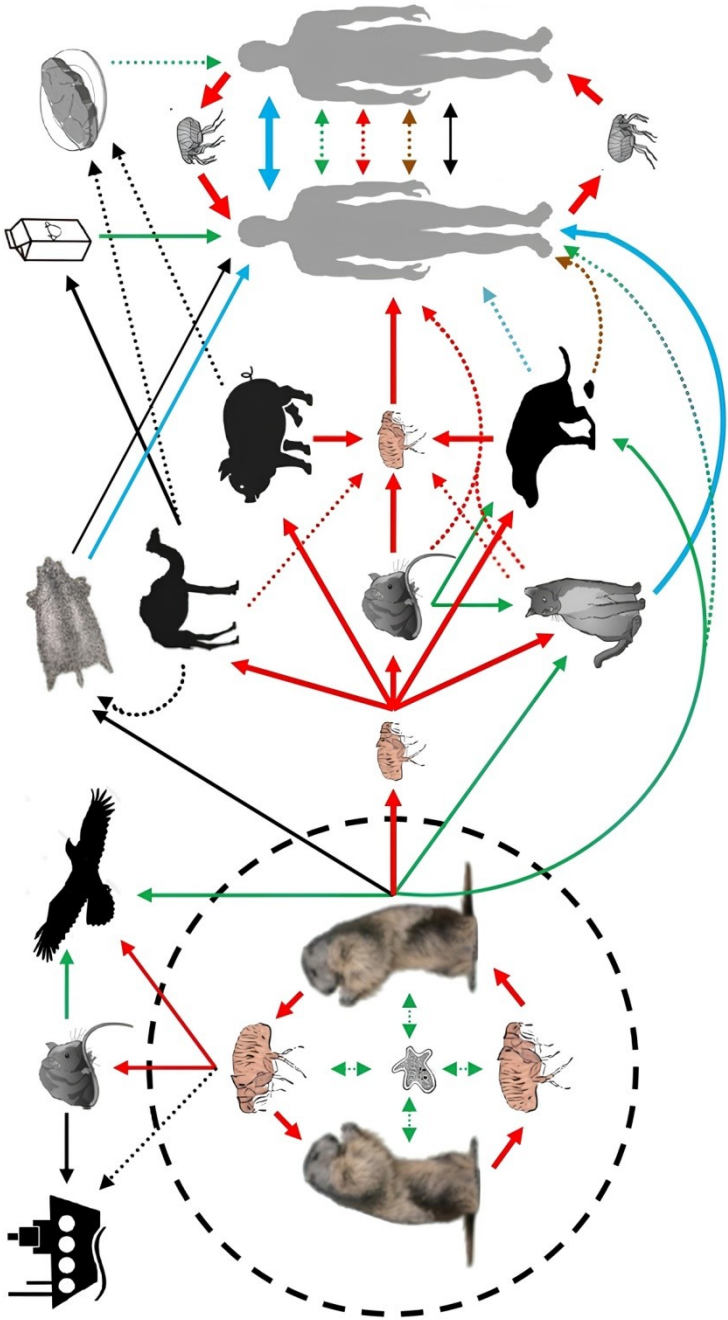
одежда больного, медицинский инструментарий (вспомним слова Даниила Самойловича Самойловича-Сущинского: «хотя [я] очищал от гноя свои биструи и ланцеты… я не только всегда имел дело с чумным ядом, но… яд этот всегда был в моих карманах»).

Аэрогенный механизм (синие стрелки) реализует передачу инфекции через контакт с больным лёгочной формой чумы (*воздушно-капельный путь*), а также через разделанные туши инфицированных животных (*воздушно-пылевой путь*).

Фекально-оральный механизм (коричневые стрелки) реализует передачу инфекции при контакте человека с фекалиями и мочой инфицированного животного, чаще всего домашнего (собаки или кошки). Реализуется крайне редко. *Алиментарный путь* этого механизма (зелёные стрелки) реализует передачу инфекции через употребление в пищу инфицированных продуктов, не прошедших термической обработки (*Y. pestis* погибает при 50°С за 30–40 минут, при кипячении – за минуту).

Кроме того, существуют дополнительные пути, которые реализуются комбинацией механизмов. Так, кошка, инфицированная через укус блохи или употребившая в пищу носителя-грызуна, помимо передачи трансмиссивным механизмом через блоху, в случае развития лёгочной формы заболевания может передать инфекцию аэрогенным механизмом (воздушно-капельным путём). При разделке тушки инфицированного животного (суслика, сурка, зайца, верблюда), помимо контактного механизма и алиментарного пути, возможна реализация аэрогенного механизма (воздушно-пылевым путём через вдыхание инфицированного аэрозоля человеком, занимающимся разделкой туши). Таким же образом возможно заражение при препарировании суслика (вспомним, как погиб Ипполит Александрович Деминский). Инфицирование птицы может осуществляться через укус блохи (например, *Ceratophyllus borealis, Frontopsylla frontalis*) или употребление в пищу носителя-грызуна. Далее возможен вынос инфекции за пределы очага, где она может

Рис. 5.6. *Схема механизмов и путей распространения чумы* ►
Пунктирными линиями обозначены пути, реализация которых случается редко



быть распространена через погадки (т. е. спрессованные непереваренные остатки пищи), тушку самой птицы и блоху. Возможно заражение в лаборатории при аварии во время работы с культурой или при заражении лабораторных животных. В данном случае возможна реализация как трансмиссивного механизма (повреждение кожных покровов), так и аэрогенного (воздушно-капельно). Наконец, носитель или блоха могут быть через транспорт (например, корабль, самолёт, автомобиль) доставлены в любой уголок планеты, как, например, крыса, с которой началась первая пандемия чумы. Конечно, когда носитель отправляется в путешествие один, необходимо, чтобы по прибытии его встречал восприимчивый организм, например, блоха или человек, который употребит его в пищу, хотя заражение человека непосредственно от грызуна через укус тоже возможно, но случается редко.

Важно понимать, что разделение путей передачи инфекции на основной, второстепенные и дополнительные связано исключительно со значением вероятности его реализации, однако даже самый маловероятный путь, например, употребление в пищу погадок инфицированной птицы, способен стать началом новой эпидемии, поскольку естественная восприимчивость человека к чуме чрезвычайно высока и не зависит от пола и возраста. Вероятно именно поэтому в хади́се[1], рассказанном А́ишей и Абдуррахма́ном ибн Ауфом аль-Кура́ши (VII век) сообщается, что любая эпидемия (и особенно чума) посылаются Всевышним как наказание и милость для человека, поскольку страдание от неё приравнено к страданию мучеников. Поэтому, «если кто услышит, что началась где-то эпидемия [чумы], не ходи туда; но если случилась она в твоей земле, то не покидай её, желая спастись, но оставайся, дабы не распространить».

[1] С араб. «предание»; в исламе сообщение о словах или действиях пророка Мухаммада, которое передано достоверными передатчиками, чья духовность и нравственность достоверны и не подвергаются сомнению. Каждый хадис имеет непрерывную цепочку передатчиков (инсад), что является подтверждением его достоверности. Сбором и изучением на достоверность занимаются учёные-мухаддисы, среди которых наиболее авторитетным является имам Мухаммад ибн Исмаил аль-Буха́ри (810–870), который для своего сборника «аль-Джами' ас-Сахи» исследовал порядка 700 тысяч известных хадисов, отнеся к достоверным около 1%. Данный хадис (перевод с арабск. автора) приводится аль-Бухари под № 3474 и № 6619.

6 ВНУТРЕННИЙ МИР

До настоящего времени мы много говорили о возбудителе чумы, но всё ещё не познакомились с ним. Настало время это исправить.

Yersinia pestis, относящаяся к роду *Yersinia* семейства *Yersiniaceae* порядка *Enterobacterales*, является грамотрицательной небольшой (1–3 х 0,5–0,7 мкм) прямой или овоидной[1] палочкой, которой присущ полиморфизм (могут встречаться длинные палочки и кокки). Но оставим микробиологическое знакомство для соответствующей главы, остановившись на внутреннем мире бактерии – её генетической структуре.

Как мы уже говорили ранее, геном чумного микроба состоит из хромосомы и трёх плазмид, из которых одна родоспецифичная (т. е. общая для всех патогенных бактерий рода *Yersinia*) и две видоспецифичные («собственные»). Все три плазмиды являются *неконъюгативными* (нетрансмиссивными), то есть неспособными в процессе конъюгации передаваться от одной бактериальной клетки к другой[2]. Первое обнаружение и доказательство их роли в вирулентности принадлежит группе учёных под руководством уже знакомого нам Игоря Валериановича Домарадского (диплом на открытие «Плазма» № 001 от 27 июня 1983 года; приоритет от 27 октября 1977 года)[3], чей приоритет долгое время был неизвестен мировой науке, поскольку проводимые исследования и открытия составляли государственную тайну. Размеры генома варьируются в зависимости от штамма: для хромосомы они составляют 4,5–4,78 Мб[4], для плазмиды pCad составляют 68,1–71,5 Кб, для плазми-

[1] Короткие толстые палочки, несколько вздутые посередине, с закруглёнными концами, по форме напоминающие бочонки.

[2] Передача возможна только путём мобилизации гетерологичными конъюгативными плазмидами или трансдукции.

[3] Косвенные указания на наличие собственных плазмид были получены Е. Г. Кольцовой (1970).

[4] Поскольку ДНК представляет собой двуцепочечную молекулу, снизанную из азотистых оснований нуклеотидов, длину всей молекулы принято выражать в количестве пар нуклеотидов (п. н.) или пар оснований (п. о.), что по-английски base pair, поэтому тысяча п. о. выражается в килобазах (Кб), миллион п. о. – в мегабазах (Мб), миллиард п. о. – в гигабазах (Гб).

ды pFra составляют 96,2–137 Кб и для плазмиды pPla составляют 9,6–10,7 Кб.

Геном чрезвычайно богат инсерционными (т. е. мобильными) последовательностями, полученными в результате горизонтального переноса генов (преимущественно от других бактерий), и демонстрирует аномалии смещения состава оснований гуанин – цитозин, когда их избыточно или мало в определённой области нуклеиновой кислоты[1], что указывает на частую внутригеномную рекомбинацию. Кроме того, как уже говорилось ранее, геном содержит 150 псевдогенов, из которых многие являются остатками «былой юности» – энтеропатогенного (т. е. кишечного) образа жизни ещё как *Y. pseudotuberculosis*.

Хромосома

На хромосоме располагается область пигментации *pgm*, которая включает локус *hms* (вспомним: кодирует белки аккумуляции гемина, играющие ведущую роль в создании биоплёнки и блока у блох) и **остров высокой патогенности** (HPI, от англ. **h**igh **p**athogenicity **i**sland), размером 35–45 Кб, на котором локализованы гены региона *ybt*, участвующие в биосинтезе сидерофора (от греч. «носитель железа») **йерсиниобактина** (Ybt, от анг. **Y**ersinia**b**ac**t**in), который является одним из видов металлофоров (т. е. носителей металлов). Молекула Ybt образует устойчивый комплекс с железом (Ybt-Fe^{3+}) за счёт пяти «активных центров» (бензольное кольцо, два тиазолидиновых кольца и два тиазолиновых кольца). Данный комплекс распознаётся соответствующим рецептором наружной мембраны бактерии и транслоцируется в цитозоль, где железо высвобождается и используется бактерией. То есть осуществляется «захват» связанного с белками железа хозяина (например, гемоглобина), что обеспечивает бактерии выживание в обеднённых железом средах и размножение в крови млекопитающих. Соответственно потеря HPI делает штамм авирулентным[2]. Другим открытым не-

[1] Так называемый GC-перекос (GC skew), когда, в случае бактерий и архей, нуклеотидные композиции ассиметричны: одна нить ДНК содержит больше гуанина и тимина, а другая – аденина и цитозина.

[2] Некоторые штаммы SNP-типа 0.PE4 (центральноазиатские) имеют HPI, но авирулентны для человека. Сравнительный анализ генов *ybt* показал, что в гене *ybtS* этих

давно металлофором является **йерсинопин** (один «активный центр» – имидазольное кольцо), который гомологичен опинам, синтезируемым некоторыми нитчатыми грибами, мхами и бактериями (например, *S. aureus, P. aeruginosa*) для «захвата» ионов цинка, железа и никеля.

Рядом с *pgm*-областью располагаются гены, отвечающие за секрецию поринов – белков внешней мембраны, которые действуют как поры, отвечая за перенос метаболитов через внешнюю мембрану и выделение ионов для поддержания осмотического давления. В частности, порины OmpF, OmpA и TolC обеспечивают выживание микроба в виде L-форм в среде хлорида натрия. Интересно, что многие высоковирулентные штаммы несут ген *ompY* (отвечающий за секрецию порина OmpY), инактивированный IS100-элементом, что может приводить к элиминированию (исчезновению) *pgm*-области (и, следовательно, HPI, что сделает штамм авирулентным). Данная способность, по-видимому, является своеобразным регулятором численности высоковирулентных штаммов, отличающихся молниеносностью инфекционного процесса. Избирательное элиминирование *pgm*-области обеспечивает стабильное протекание эпизоотий с доминирующим участием штаммов с избирательной вирулентностью, инфекционный процесс с участием которых протекает медленнее, но которые не имеют IS100-элемента (штаммы неосновных подвидов). И это логично, поскольку отсутствие такого «регулятора» быстро бы привело к смерти всех носителей и, следовательно, окончанию эпизоотий в очаге. Эту мысль также подтверждает тот факт, что внедрение IS100-элемента в ген порина у *Y. pseudotuberculosis* не приводит к элиминированию *pgm*-области.

Также на хромосоме располагается *psa*-оперон[1], который кодирует синтез **pH6-антигена** (pH6-Ag; Psa; PsaA) при 37°C и pH ≤ 6 (кислая среда), представляющего собой фи́мбрии (пи́ли), то есть нитевидные белковые структуры, расположенные на поверхности бактериальной клетки. Данный антиген обеспечивает связывание

штаммов, в позиции 661, имеется замена цитозина на тимин (пишут: «C→T»), что приводит к синтезу аминокислоты серин (вместо пролина) в белке YbtS. Вполне вероятно, что указанное приводит к невозможности синтеза йерсиниобактина и, следовательно, является одной из причин авирулентности.

[1] Функциональная единица генома у прокариот.

бактерии с клетками альвеолярного эпителия за счёт соединения с фосфатидилхолином, расположенным на поверхности мембраны эпителиальной клетки. Также он обеспечивает ингибирование (т. е. снижение, замедление) фагоцитоза макрофагов. Ранее считалось, что это обеспечивается путём адгезии (т.е. прикрепления) бактерий за счёт пилей (pH6-антигена) с последующей доставкой Yop-белков (о них далее), синтез которых кодируется плазмидой pCad. Однако опыты[1] с использованием штаммов синтезирующих и не синтезирующих pH6-антиген показали, что нет различия в прикреплении к макрофагам, но существует существенная разница между распределением клеток внутри макрофага. Так, штамм, синтезирующий pH6-антиген (Psa-позитивный)[2] показал примерно вдвое более низкое количество захваченных микробных клеток (Рис. 6.1). Таким образом, ингибирование фагоцитоза в данном случае обеспечивается не адгезией и доставкой Yop-белков, а предотвращением захвата макрофагом бактериальной клетки (т. е. бактерии прикрепляются к макрофагу, но благодаря pH6-антигену в массе своей не поглощаются им). Здесь следует напомнить, что pH6-антиген синтезируется при pH ≤ 6 (в фаглизосоме макрофага), значит он обеспечивает защиту только от повторного поглощения макрофагами, когда инфекционный процесс от внутриклеточной фазы перешёл к внеклеточной. Кроме того, pH6-антиген агглютинирует эритроциты, что высвобождает железо для его последующего захвата йерсиниобактином, а также связывается с липопротеинами плазмы крови, содержащими аполипопротеин B (apoB), что препятствует распознаванию возбудителя иммунной системой организма (при этом антитела к apoB не препятствуют связыванию бактерии с липопротеинами).

Кроме того, на хромосоме располагается ген *ail*, который кодирует синтез **белка Ail** (от англ. **a**ttachment **i**nvasion **l**ocus [protein]), располагающегося на внешней мембране. Данный белок выполняет несколько функций. Во-первых, он обеспечивает сывороточную

[1] Huang X.-Z., Lindler L. E. *The pH6 antigen is an antiphagocytic factor produced by Yersinia pestis independent of Yersinia outer proteins and capsule antigen.* Infect Immun. 2004; 72(12):7212–7219; DOI: 10.1128/IAI.72.12.7212-7219.2004.

[2] Принято писать «Psa$^+$» или «PsaA$^+$», чтобы отличить их от штаммов, не синтезирующих pH6-антиген или Psa-негативных (пишут «Psa$^-$» или «PsaA$^-$»). Данная запись показывает отсутствие (или наличие) того или иного фактора у штамма.

резистентность, предотвращая бактериальный лизинг во всём диапазоне температур (от 6°C во время зимней спячки до 37°C в теле млекопитающего), что особенно важно при отсутствии синтеза адгезина YadA (вспомним: ген *yadA* у *Y. pestis* инактивирован). Во-вторых, Ail обеспечивает связывание бактерии с клеткой млекопитающего, в том числе через взаимодействие с компонентами внеклеточного матрикса, что повышает скорость доставки Yop-белков, разрушающих клетку млекопитающего изнутри (цитотоксическое действие). Чаще всего доставка Yop-белков осуществляется в макрофаги, которые выступают в роли клеток-хозяев. В-третьих, Ail обеспечивает инвазию бактерии в непрофессиональные фагоциты (фибробласты, эпителиальные клетки и т. д.) и способствует аутоагрегации, то есть формированию скоплений (агрегатов), что играет важную роль как в формировании бубона (образование конгломератов в макрофагах лимфатических узлов), так и развитии лёгочной формы заболевания.

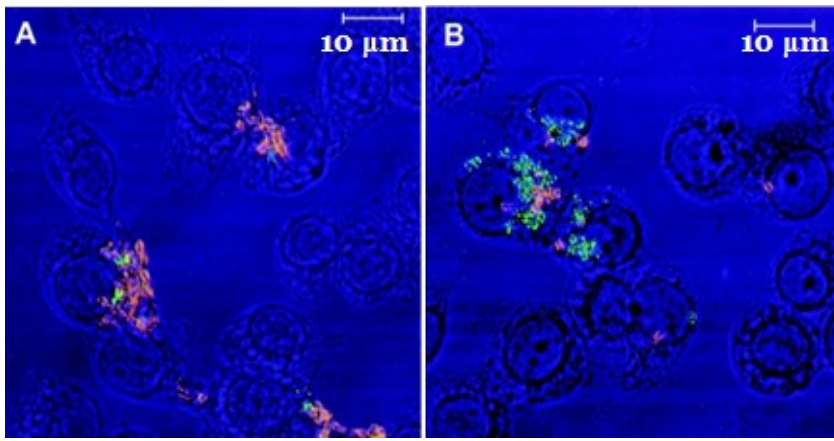


Рис. 6.1. *Конфокальная флуоресцентная микроскопия макрофагов RAW264.7, инфицированных штаммами Y. pestis.*
Бактериальные клетки внутри макрофагов помечены зелёным, вне макрофагов – оранжевым (Huang X.-Z., 2004; публикуется по лицензии The American Society of Microbiology, разрешение передано через Copyright Clearance Center, Inc):
A – штамм Y. pestis KIM5–3001 (PsaA+); B – штамм Y. pestis KIM5–3001.1 (PsaA-)

Отдельного внимания заслуживают участки хромосомы, которые являются профагами – геномами встроившихся умеренных бактериофагов. Первый умеренный бактериофаг чумного микроба, названный фагом H, был выделен[1] в 1965 году Николаем Николаевичем Новосе́льцевым[2] из органов морской свинки, погибшей от чумы. На следующий год им же был выделен второй умеренный бактериофаг H-I уже из культуры штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ (подробнее об этом штамме в Главе 26).

Помимо уже рассмотренного ранее бактериофага Ypfφ, отдельного внимания заслуживает нитчатый бактериофаг CUS-2, чей геном также встроен в хромосому чумного микроба. Этот профаг инактивирует ген *rovA*, кодирующий регулятор транскрипции RovA, продукция которого осуществляется при температуре 37°C и активирует *psa*-оперон. При этом у других патогенных йерсиний RovA участвует только в инвазии, то есть интегрирование профага изменило его функции. В предыдущих главах мы говорили, что синтез внеклеточного матрикса для образования биоплёнки осуществляется продуктами генов *hms*, синтез которых стимулирован продукцией регулятора транскрипции RovM. Таким образом, можно заключить, что гены, ответственные за синтез регуляторов RovM и RovA включаются попеременно в зависимости от температуры, а все сложные процессы, приводящие к блокированию блохи и устойчивости к фагоцитозу (по сути, выживание как внутри хладнокровного переносчика, так и теплокровного носителя), стали возможными благодаря удачной интеграции генома бактериофага CUS-2 в геном чумного микроба.

Плазмида pCad (pYV, pVW, pLcr и pCD1[3])

Родоспецифичная плазмида, получившая название *плазмида кальцийзависимости* ввиду способности определять терморегулирующую зависимость клеток от ионов кальция. Также именуется *плазмидой вирулентности*. В первую очередь она интересна тем, что несёт так называемые гены LCR (от англ. **l**ow-**C**a^{2+}-**r**esponse), кото-

[1] Новосельцев Н. Н. *Умеренный фаг чумного микроба.* Автореферат дис. … доктора медицинских наук, Саратов, 1973, 44 с.

[2] Советский врач, бактериолог.

[3] Все эти названия используются в современной научной литературе.

рые при 37°C в ответ на низкое содержание Ca^{2+} обеспечивают синтез белка вирулентности **LcrV**, открытого в 1956 году[1] как V-антиген[2]. В случае контакта с клеткой млекопитающего он играет роль в реализации *системы секреции III типа*[3] (проникновения внутрь клетки млекопитающего). Возможна реализация и альтернативного механизма (Рис. 6.2), когда LcrV проникает из бактериальной клетки в клетку млекопитающего с помощью транспортирующего контактно-активируемого транслокатора (VCAT, от англ. Lcr**V**-transporting **c**ontact-**a**ctivated **t**ranslocator). Попав в цитоплазму клетки млекопитающего одним из способов, LcrV, вероятно, играет иммунодепрессивную роль (подавление TNFα и IFNγ). С другой стороны, синтез LcrV стимулирует секрецию **Yop-белков** (от англ. **Y**ersinia **o**uter **p**roteins), гены которых разбросаны по всей плазмиде. LcrV взаимодействует с LcrG, что позволяет белкам (в первую очередь YopB, YopD и YscF) организовать структуру, которую принято называть *молекулярной иглой* («свободный» LcrG блокирует её построение, поэтому LcrV как бы «отодвигает» LcrG подобно тому, как отодвигают ворота), а затем нацеливает иглу на контакт с клеткой млекопитающего (клеткой-мишенью), обеспечивая проникновение эффекторных Yop-белков (YopE, YopH, YopJ/YopP, YopM, YpkA/YopO) в цитоплазму клетки млекопитающего (Рис. 6.2). Эти белки работают вместе, чтобы разрушить цитоскелет клетки млекопитающего и нарушить регуляцию сигнальных путей. Например, YopE имитируют белки, активирующие ГТФазу, что приводит к подавлению сигнальных белков Rho ГТФазы, играющих важную роль во множестве общих клеточных функций. YopT расщепляет и высвобождает связанные с мембраной Rho ГТФазы. YopJ представляет собой ацетилтрансферазу, блокирующую передачу сигналов

[1] Burrows T.W., Bacon G.A. *The basis of virulence in Pasteurella pestis: an antigen determining virulence*. Br J Exp Pathol. 1956; 37(5):481–493.

[2] Открыт совместно с поверхностным липопротеином W-антигеном (функция неизвестна) и некоторое время их объединяли в VW-антиген ввиду сложности разделения (см. Burrows T.W., Bacon G.A. *V and W Antigens in Strains of Pasteurella pseudotuberculosis*. Br J Exp Pathol. 1960; 41(1): 38-44). Термин «V-антиген» всё ещё встречается в научной литературе.

[3] Один из видов бактериальной системы секреции, с помощью которой белки из бактериальной клетки проникают в клетку-хозяина (клетку млекопитающего). Некоторые бактерии используют эту систему для изменения структуры клеточной стенки хозяина, с целью последующего проникновения в клетку.

как митоген-активируемой протеинкиназы, так и транскрипционного фактора-κB (читают как «каппа-би»), ингибируя, таким образом, продукцию провоспалительных цитокинов. Интересно, что YopH, который катализирует дефосфорилирование специфических белков-макрофагов, что приводит в том числе к снижению продукции интерлейкинов (и, как следствие, снижению функции иммунной системы), при этом, вероятно, имеет эукариотическое происхождение.

В какой-то степени эффекторные Yop-белки можно рассматривать в качестве бактериального эквивалента вирусных онкобелков, поскольку они имитируют или улавливают клеточные сигналы, причём более эффективно, чем их эукариотические аналоги, вызывая нарушение регуляции нормального клеточного функционирования путём чрезмерной активации или ингибирования сигнального пути, что приводит к обозначенным последствиям. Вместе с тем, в отличие от вирусных онкобелков, Yop-белки остаются в бактериальной клетке в состоянии покоя, становясь «активными» только в клетках-мишенях (в ответ на изменение температуры и содержания кальция).

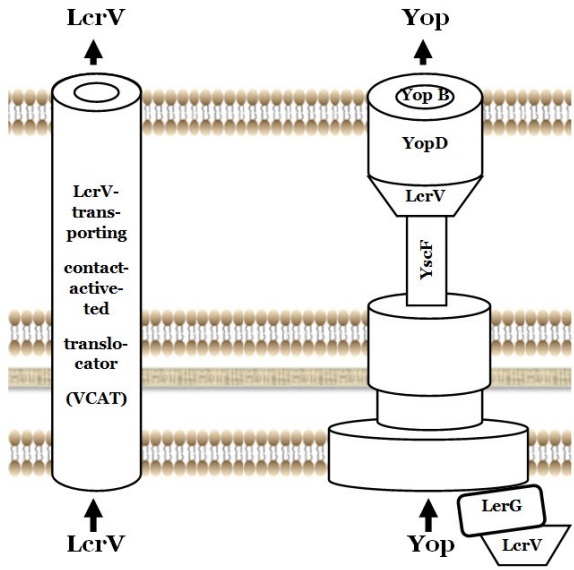


Рис. 6.2. *Схема (не масштабная) проникновения LcrV и Yop-белков в цитоплазму клетки млекопитающего с помощью VCAT и системы секреции III типа*

Важно подчеркнуть, что в условиях кислой среды (pH ≤ 6), значительно снижается экспрессия YopE, YopN и YopD, поэтому pH6-антиген, о котором речь шла ранее, выступает в роли независимого фактора устойчивости *Y. pestis* к фагоцитозу.

Плазмида pFra (pYT и pMT1)

Данную плазмиду чумной микроб, вероятно, приобрёл у *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser[1]. typhy в результате горизонтального переноса, поскольку она на 97% идентична плазмиде pHMC2 этого вида. Плазмида pFra содержит *caf*-оперон, который кодирует синтез **капсульного антигена** или фракции I (Fra[2], F1 и FI, от англ. **fra**ction **I**), обнаруженного ещё Александром Йерсеном, но выделенного в чистом виде Эдгаром Бе́йкером [3] (с коллегами) в 1952 году[4] (метод Э. Бе́йкера[5]). Капсульный антиген представляет собой многофункциональный белок существующий в трёх изоморфах:

Caf1$_{NT1}$ (основной),

Caf1$_{NT2}$ (штаммы Центрально-Кавказского высокогорного очага),

Caf1$_{NT3}$ (штаммы Восточно-Кавказского высокогорного очага[6]).

Капсульный антиген синтезируется при 37°C (при 28°C его синтезируется в 1000 раз меньше!) и образует большую гелеобразную полимерную оболочку (капсулу), покрывающую всю внешнюю по-

---

[1] Так обозначают сероварианты, то есть группу микроорганизмов одного вида, объединённых общей антигенной структурой, определяемой серологическими методами.

[2] Отсюда основное название плазмиды («p» – **p**lasmid + «Fra» – **fra**ction).

[3] Edgar E. Baker; американский врач, бактериолог.

[4] Baker E. E., Sommer H., et al. *Studies on Immunization Against Plague: I. The Isolation and Characterization of the Soluble Antigen of Pasteurella Pestis*. J Immunol. 1952; 68(2):131–145; DOI: 10.4049/jimmunol.68.2.131.

[5] Выращенную в течение трёх суток на плотной питательной среде при 37°C культуру чумного микроба смывают 0,9%-ным раствором хлорида натрия и двукратно обезвоживают охлаждённым ацетоном. Затем фракцию I экстрагируют 2,5%-ным раствором хлорида натрия при комнатной температуре сутки, после чего выделяют из раствора соли насыщенным раствором сульфата аммония (pH 7,5).

[6] Отличительной особенностью этих штаммов, именуемых кавказскими, является бо́льший размер плазмиды pFra за счёт наличия двух дополнительных областей.

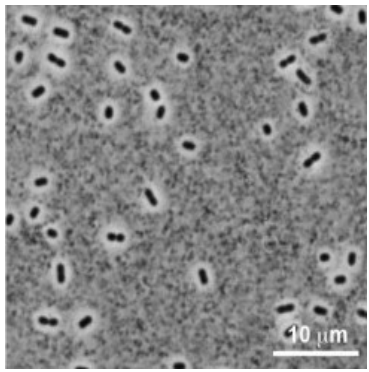


Рис. 6.3. *Продукция капсулы штаммом Y. pestis VTnF1, выращенным при 37°C (по Derbice A., 2015)*

верхность бактерии (Рис. 6.3 и 6.4). Визуально (при световой микроскопии) это аморфная субстанция, которая при высоком разрешении (электронная микроскопия) представляет собой структуру из отдельных фимбриеподобных тяжей длиной до 200 нм, расходящихся в различные стороны от поверхности бактерии. Ряд структурных элементов капсульного антигена гомологичен некоторым интерлейкинам (например, IL-1β), из-за чего первые могут вступать в конкуренцию за связывание с рецепторами на лимфоидных клетках, препятствуя развитию адекватного иммунного ответа. Важно понимать, что в отличие от системы секреции III типа механизм устойчивости к фагоцитозу обеспечивается не введением белков в фагоцит с последующим цитотоксическим действием, а блокированием возможности поглощения бактерии фагоцитом. Реализация данного механизма достаточно затянута во времени (до 5 часов), однако она снижает вероятность фагоцитоза с 30 до 5%. Вместе с тем существуют штаммы, которые хотя и не способны синтезировать капсульный антиген (бесфракционные штаммы), также способны проявлять высокую вирулентность.

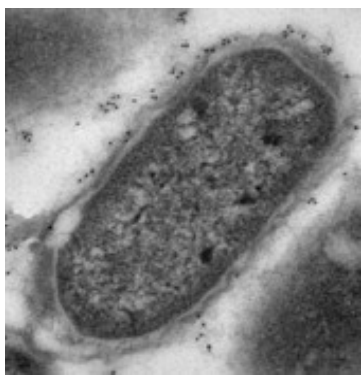


Рис. 6.4. *Капсула, покрывающая поверхность бактерии*

Кроме того, плазмида pFra содержит ген *ymt*, запускающий при 28°C синтез мышиного токсина (Ymt)[1], открытого в 1955 году[2], о котором мы достаточно много говорили ранее. Напомним, что токсин необходим для выживания

[1] Иногда его ещё называют *фракция II*.

[2] Ajl S. J., Reedal J. S., et al. *Studies on plague. I. Purification and properties of the toxin of Pasteurella pestis*. J Bacteriol. 1955; 70(2):158–169; DOI: 10.1128/jb.70.2.158-169.1955.

Y. pestis в кишечнике блохи, чтобы далее при участии *pgm*-области сформировать чумной блок.

Плазмида pPla (pYP, pPst и pPCP1)

Данная плазмида, по-видимому, приобретена чумным микробом в результате горизонтального переноса генов у того же вида сальмонелл, только другого серовара – *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. typhimurium. Она содержит гены *pla, pst* и *pim*, которые кодируют синтез активатора плазминогена, бактериоцина (пестицина) и белка иммунитета к пестицину соответственно.

Активатор плазминогена (Pla[1], от англ. **pl**asminogen **a**ctivatior) является поверхностной протеазой (т. е. ферментом, расщепляющим пептидную связь между аминокислотами в белках), и поскольку он обладает высокой гомологией с четырьмя поверхностными протеазами других энтеробактерий (PgtE – *Salmonella enterica*, SopA – *Shigella flexneri*, OmpT и OmpP – *Escherichia coli*), то все они объединены в одно семейство омптиновых протеаз (от англ. omptin, OmpT; внимание: не путать с порином OmpY!), которые расщепляют пептидную связь с помощью молекулы воды. Интересно, что при различной температуре активатор плазминогена способен проявлять как фибринолитическую активность (37°C), так и плазмокоагулазную (27°C). Первое было показано Р. Р. Мэ́дисоном[2] в 1936 году[3], второе – Эрне́стом Джа́вецем[4] и Карлом Фри́дрихом Ма́йером[5] в 1944 году[6], однако взаимосвязь между этими свойствами доказал уже не раз упомянутый Игорь Валерьянович Домарад-

[1] Отсюда основное название плазмиды («р» – **p**lasmid + «Pla» – **pl**asminogen **a**ctivator).

[2] R. R. Madison; американский врач, бактериолог.

[3] Madison R. R. *Fibrinolytic specificity of B. pestis*. Proceeding of the Society for the Experimental Biology and Medicine. 1936; 34(3):301–302; DOI: 10.3181/00379727-34-8597G.

[4] Ernest Jawetz, 1916–?; австрийский и американский врач польского происхождения, бактериолог. Эмигрировал в США в 1939 году, спасаясь от нацистов.

[5] Karl Friedrich Meyer, 1884–1974; швейцарский и американский ветеринарный врач, бактериолог, патолог. Крупный исследователь многих инфекционных болезней, названный «Пастером XX века».

[6] Jawetz E., Meyer K. F. *Studies on plague immunity in experimental animals. II. Some factors of the immunity mechanism in bubonic plague*. J Immun. 1944; 49(1):15–30.

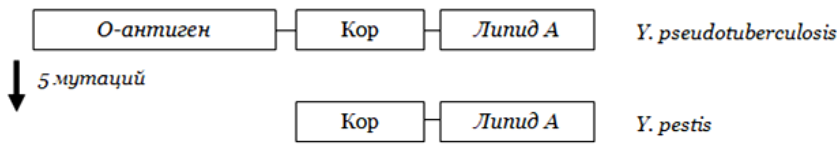
ский (с коллегами) лишь в 1963 году[1]. Активатор плазминогена играет важную роль на начальных этапах патогенетического процесса при бубонной форме чумы. Благодаря плазмокоагулазной активности он расщепляет и инактивирует **ингибитор пути тканевого фактора** (TFPI, от англ. **t**issue **f**actor **p**athway **i**nhibitor), обеспечивая свёртывание крови в месте проникновения в млекопитающего. Затем благодаря фибринолитической активности, возникающей под действием температуры тела, обеспечивает активацию плазминогена (отсюда и его название), который в активной форме (плазмин) вызывает разрушение сгустков фибрина, позволяя в месте укуса сформировать обширный бактериальный очаг с небольшим количеством воспалительных клеток, не мешающих диссеминации возбудителя в лимфатические узлы. В обратной же ситуации, когда активатор плазминогена не синтезируется, множество воспалительных клеток быстро блокируют клетки возбудителя, значительно ограничивая их распространение, что и бывает у штаммов, лишённых плазмиды pPla (вспомним: кавказские штаммы). Он участвует в резистентности к системе комплемента (т. е. каскаду ферментов, облегчающих борьбу с инфекционным агентом) путём разрушения С3-компонента, а также проявляет протеолитическую активность (т. е. способность расщеплять белки). В случае первичной лёгочной формы чумы активатор плазминогена не требуется для диссеминации, однако обеспечивает резкое и быстрое размножение, приводя к развитию молниеносной пневмонии и отёку лёгких, то есть фульминантной лёгочной форме, о которой мы уже упоминали в Главе 3. Роль активатора плазминогена в развитии первичной септической формы (когда микроб извне попадает непосредственно в кровяное русло) не отмечена.

Важно отметить, что активатор плазминогена проявляет активность, только связываясь с эндотоксином **липополисахаридом** (ЛПС), открытым в 1956 году[2]. Липополисахарид, синтез которого кодируют хромосомные гены, присущ всем грамотрицательным бактериям и, будучи «заякоренным» в бактериальной мембране, обеспечивает структурную целостность бактерии, защищая её

[1] Домарадский И. В., Яромюк Г. А., и др. *О коагуляции плазмы чумным и псевдотуберкулёзным микробами*. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1963; 7:79–82.

[2] Davies D. A. L. *A specific polysaccharide of Pasteurella pestis*. J Biochem. 1956; 63:105–116.

мембрану от воздействий химических агентов, например, антибиотиков. Состоит из *липида А*, «заякоренного» дисахарида, и полисахаридных цепей *О-антигена* (О-боковых цепей), которые соединены друг с другом олигосахаридной цепью, то есть так называемым *олигосахаридом* или *ко́ром*[1] (*S-форма ЛПС*). *Л*ипид А ответственен за высокую токсичность, поскольку, будучи высвобожденным в кровоток, он способен вызвать системную иммунную реакцию, сопровождающуюся *л*ихорадкой вплоть до септического шока. В составе *Л*ПС он экранируется остальными структурами, подобно тому, как рождественская ёлка экранирует своими пышными ветвями положенные под неё подарки от зорких детских глаз. *Л*ПС чумного микроба отличается отсутствием О-антигена (*R-форма ЛПС*) ввиду приобретённых пяти мутаций в генах, синтезирующих *Л*ПС, однако именно это позволяет коровой части связаться с активатором плазминогена и влиять на стереометрию (пространственное строение) его молекулы.



Структура *Л*ПС температурно-зависима и варьируется при 37°С (млекопитающее), 27°С (окружающая среда / блоха) и 6°С (зимовка млекопитающего).

Кор является достаточно консервативным. Он состоит из трёх остатков L-*глицеро*-α-D-*манно*-гептозы (LD-Hep) и двух остатков 3-деокси-α-D-манно-окт-2-улозоновой кислоты (Kdo)[2]. Внутренняя его область функционирует как рецептор большинства литических бактериофагов, например, φA1122. При изменении температуры происходят стереометрические изменения в наиболее близкой к

[1] От англ. core – «ядро».

[2] Интересно, что кор *Л*ПС кавказских, алтайских и гиссарских штаммов отличается от кора *Л*ПС штаммов основного подвида и улегейских штаммов отсутствием остатка D-глицеро-D-манно-гептозы (DD-Hep) в наиболее удалённом от липида А остатке гептозы (LD-HepIII).

липиду А части: замена бокового остатка 3-деокси-α-D-манно-окт-2-улозоновой кислоты (Kdo) на остаток D-глицеро-α-D-тало-окт-2-узолоновой кислоты (Ko). При 37°C – (Kdo), при 27°C – (Kdo) + (Ko), при 6°C – (Ko). Однако эти изменения не влияют на фибринолитическую и плазмокоагулазную активности[1], тем более что у некоторых подвидов (например, кавказские штаммы) замены вообще не происходит. С другой стороны, утрата наиболее удалённой от липида А части кора (её укорочение) приводит к полной потере фибринолитической и плазмокоагулазной активности.

Липид А, напротив, не консервативен (Рис. 6.5). При температуре 27°C он чаще всего является 6-ацильным (т. е. содержит шесть остатков жирных кислот[2]), а при 6°C и 37°C – 4-ацильным[3], который не распознается Toll-подобными рецепторами (TLR, от англ. **T**oll-**l**ike **r**eceptor)[4] иммунной системы, в частности TLR-4, но об этом позже. Сейчас важно понимать, что наличие 4-ацильного ЛПС при 6°C является одним из механизмов выживания (уклонения от иммунной системы) чумного микроба в теле носителя во время зимней спячки, когда его тело охлаждается примерно до такой температуры. Также нужно отметить, что при одинаковом синтезе активатора плазминогена его активность при 37°C выше, следовательно, 4-ацильный липид А в составе ЛПС оказывает лучшее воздействие на стереометрию активатора плазминогена чумного микроба. Эта мысль подтверждается рядом авторов, которые указывают[5], что зависимость фибринолитической и плазмокоагулазной «активности» активатора плазминогена от температуры лишь косвенная,

---

[1] Изменения влияют на специфичность связывания диагностических (литических) бактериофагов, что будет подробно рассмотрено в Главе 32.

[2] Четыре остатка 3-гидроксимиристиновой кислоты, один остаток лауриновой кислоты и один остаток пальмитолеиновой кислоты. При данной температуре возможен также синтез 3-ацильных, 4-ацильных, 5-ацильных форм.

[3] Четыре остатка 3-гидроксимиристиновой кислоты. При данной температуре иногда встречается синтез 3-ацильных и 6-ацильных форм.

[4] От нем. «классный»; названы так по одноимённому гену мушек-дрозофил, который, в свою очередь, назван по реплике «Das war ja toll!» (с нем. «Вот это класс!») немецкого биолога Кристианы Нюсляйн-Фольхард, сказанной в момент обнаружения личинок-мутантов дрозофил с недоразвитой вентральной частью тела. Первый рецептор млекопитающих, TLR-4, был открыт в 1997 году советским (узбекским) и американским иммунологом Русланом Максу́товичем Метжи́товым (р. 1966) с колл.

[5] Korhonen T. K., Haiko J., et al. *Fibrinolytic and coagulative activities of Yersinia pestis.* Front CellInfect Microbiol. 2013; 3:35; DOI: 10.3389/fcimb.2013.00035.

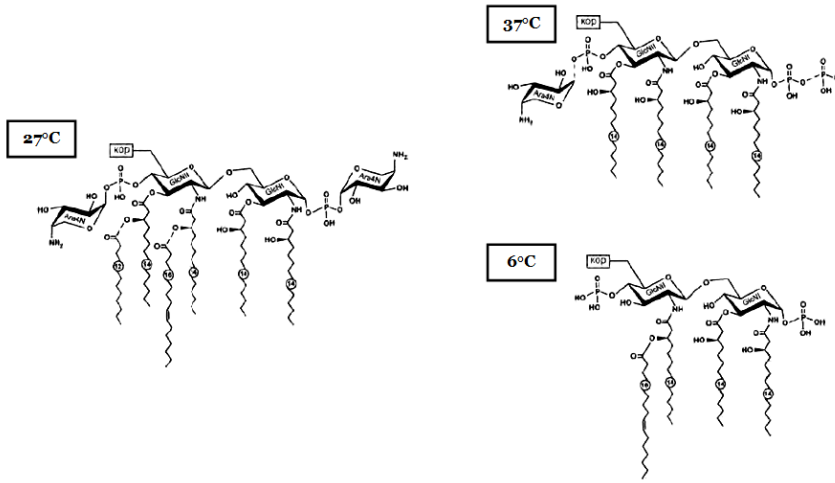


Рис. 6.5. *Структуры липида А при различных температурах (по Книрель Ю. А., 2012)*

поскольку в сущности «активность» активатора плазминогена зависит исключительно от структуры *Л*ПС (которая, в свою очередь, уже зависит от температуры). И в этой связи стоит также заметить, что *Л*ПС *Y. pseudotuberculosis*, содержащий О-антиген, вообще не «активирует» активатор плазминогена, поскольку боковые цепи О-антигена создают стереометрические препятствия (экранируют активатор плазминогена).

В 1966 году, подвергнув чумной микроб экстракции трихлоруксусной кислотой при 4°С (метод Андре́ Буаве́на[1]), А. А. Попов и Владимир Владимирович Аки́мович[2] выделили[3] вещество, идентифицированное как **основной соматический антиген** (ОСА) или О-антиген. Вместе с тем ранее мы говорили, что в результате эво-

[1] André Boivin, 1895–1949; французский врач, бактериолог. Работая в Институте бактериологии и иммунологии человека (ныне – Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare Medico-Militară „Cantacuzino"), совместно с *Л*идией и Ионом Месробяну сделал биохимичсекую характеристику эндотоксинов с использованием метода экстракции трихлоруксусной кислотой.

[2] 1912–1968; советский врач.

[3] Попов А. А., Акимович В. В. *Производство бакпрепаратов для профилактики и диагностики особо опасных инфекций*. Саратов, 1966, С. 140–143.

люции *Y. pestis* потеряла его. Дело в том, что инактивация генов, кодирующих синтез О-антигена, была доказана почти полвека спустя. Полученный в 1966 году антиген действительно не был похож на типичный О-антиген грамотрицательных бактерий по химической структуре и оказался совершенно не токсичным для белых мышей и морских свинок. Более тщательный анализ показал, что ОСА является циклическим тетрамером из повторяющихся трисахаридных единиц, состоящих из ацелированной маннозаминуроновой кислоты, дезоксигалактозы и глюкозы, то есть по химическому составу это **энтеробактериальный общий антиген** (ЭОА), характерный для большинства энтеробактерий. Синтез ЭОА, который многие учёные до сих пор называют ОСА, осуществляется хромосомными генами и тесно связан с синтезом ЛПС. По сути, его можно рассматривать как «дефектный» О-антиген, который не токсичен, но является активным индуктором антител.

Пестицин (P1, Psn) является бактериоцином, то есть веществом белковой природы, угнетающим рост чувствительных к нему бактерий того же рода или вида. В данном случае пестицин вызывает лизис клеточной стенки некоторых штаммов *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis* I серовара, содержащих 3,6-дидеоксид-В-рибогексозы (выступают в качестве рецептора для P1), за счёт гидролиза связи между N-ацетилглюкозамином и N-ацетилмурамовой кислотой в составе муреина (липопротеина клеточной стенки). Для защиты от пестицина бактерия синтезирует **белок иммунитета к пестицину**, гены которого расположены на плазмиде pPla, поэтому синтез пестицина направлен на бактерии, не имеющие белок иммунитета – на штаммы, лишенные или имеющие дефект плазмиды pPla, и штаммы *Y. pseudotuberculosis* I серовара.

Новые плазмиды

Ранее мы говорили, что в природе встречаются штаммы, лишённые pPla или pFra, но способные проявлять высокую вирулентность. Сложно сказать, какие факторы это обеспечивают, однако имеются данные, что чумной микроб может содержать *конъюга-*

тивные (трансмиссивные) плазмиды[1]. Сообщения об этом появились ещё в 80-х годах прошлого столетия[2], однако их функции ещё полностью не изучены. Так, штамм *Y. pestis* Java-9 (bv. orientalis), выделенный на о. Ява в Индонезии в 1957 году от мёртвой яванской крысы (*Rattus rattus diardi*), лишён плазмиды pFra, но имеет новые плазмиды pJARS35 (35,044 Кб) и pJARS36 (36,085 Кб). Важной особенностью штамма являются устойчивость к мышьяку и арсениту, за которые, согласно геномному анализу[3], отвечает транспозон[4] *Tn2503*, который обнаруживающийся не только на новых плазмидах pJARS35 и pJARS36, но и на плазмидах pCD1 и pPla. Важно отметить, что новые плазмиды также несут гены, отвечающие за реализацию *системы секреции IV типа*, которая может осуществлять перенос в эукариотическую или прокариотическую клетку белков и ДНК, то есть, в нашем случае, осуществлять конъюгативный перенос плазмид![5] Обнаруженные общие плазмидные локусы с *Aeromonas culicicola* позволяют предположить, что штамм приобрёл плазмиды от неродственной бактерии. И это важно, поскольку долгое время считалось, что осуществить перенос генов в чумной микроб возможно только в условиях лаборатории. Кроме того, это подтверждает важную мысль, что кишечник кровососущих насекомых (в частности, блохи) может выступать в качестве потенциального места генетического обмена. Можно сказать, что приобретение мышиного токсина *Y. pestis* способствовало не только расширению круга млекопитающих (что повысило трансмиссивность), как мы говорили ранее, но и стало отправной точкой эволюционного пути для приобретения новых генов (в том числе генов антибиотикорезистентности).

---

[1] Следует отметить, что плазмида pFra кавказских штаммов содержит неполноценный tra-оперон, который ранее мог функционировать по своему назначению, то есть обеспечивать процесс конъюгации (переноса генетической информации).

[2] Tsukano H., Wake A., et al. *Plasmid-like properties of the four virulence-associated factors of Yersinia pestis*. Microbiol Immunol. 1986; 30(9):837–848; DOI: 10.1111/j.1348-0421.1986.tb03011.x.

[3] Eppinger M., Radnedge L., et al. *Novel plasmids and resistance phenotypes in Yersinia pestis: unique plasmid inventory of strain Java 9 mediates high levels of arsenic resistance*. PLoS ONE. 2012; 7(3):e32911; DOI: 10.1371/journal.pone.0032911.

[4] Т. е. участок ДНК, способный к транспозиции (передвижению) внутри генома.

[5] Проведённые опыты показали возможность передачи плазмид штаммам *Y. enterocolitica.*

С другой стороны, наличие дополнительных плазмид (их называют *криптическими*[1]) при сохранении «собственных» (pCad, pFra и pPla) обычно не приводит к снижению вирулентности. Так, наличие криптической плазмиды pTP33 (34 Кб)[2] у штамма *Y. pestis* KM932, выделенного в 1987 году в Тувинском горном очаге (Россия), не влияет на вирулентность, а её функции к настоящему времени неизвестны. Однако выделенный[3] в 1986 году в Центрально-Кавказском высокогорном очаге (Россия) штамм *Y. pestis* C-267, содержащий криптическую плазмиду pCKF (5,4 Кб), имеет сниженную вирулентность и потребность в пролине. Так или иначе, в настоящее время эти плазмиды используются в качестве генетических маркеров штаммов данных очагов.

Известны штаммы из Китая. Это авирулентный штамм *Y. pestis* 91001, содержащий дополнительную криптическую плазмиду pCRY (22 Кб), и безымянные штаммы *Y. pestis*, содержащие дополнительную криптическую плазмиду pYCR (5,919 Кб). Первый штамм был выделен в 2004 году от полёвки Брандта (*Lasiopodomys brandtii*)[4], а вторые – в 2000 году в регионах провинции Юньнань[5].

Малые некодирующие РНК

Малые некодирующие РНК (мнРНК) – это короткие молекулы РНК, являющиеся важными компонентами многих сигнальных путей у бактерий, с которых рибосома не транслирует синтез белков. Источником мнРНК могут быть умеренные бактериофаги. Рассмотрим функции некоторых мнРНК чумного микроба: мнРНК, являющаяся РНК-термосенсором, в ответ на повышение температуры до 37°С запускает ген *lcrF*, кодирующий синтез белка LcrF,

[1] Присутствие этих плазмид не отражается на фенотипе.

[2] Структурно-функциональный анализ этой плазмиды показал, что она является кольцевым геном бактериофага.

[3] Оглодин Е. Г., Ерошенко Г. А., и др. *Структурно-функциональный анализ криптических плазмид штаммов Yersinia pestis из двух природных очагов чумы России.* Проблемы особо опасных инфекций. 2015; 4:82–85; DOI: 10.21055/0370-1069-2015-4-82-85.

[4] Song Y., Tong Z., et al. *Complete genome sequence of Yersinia pestis strain 91001, an isolate avirulent to humans.* DNA Res. 2004; 11(3):179–197; DOI: 10.1093/dnares/11.3.179.

[5] Dong X. Q., Lindler L. E., et al. *Complete DNA sequence and analysis of an emerging cryptic plasmid isolated from Yersinia pestis.* Plasmid. 2000; 43(2):144–148; DOI: 10.1006/plas.1999.1432.

который, в свою очередь, запускает систему секреции III типа; мнРНК Ysr141 регулирует синтез YopJ; мнРНК Ysr170, влияя на гены плазмиды pCad, повышает выживаемость бактерии в макрофагах; мнРНК HmsB усиливает активацию образования биоплёнки, вероятно, влияя на гены *hms* (вспомним, что на функцию *hms* также влияет геном бактериофага CUS-2). В целом функции многих уже идентифицированных мнРНК ещё не определены, однако очевидна их важная роль в жизненном цикле бактерии.

CRISPR

Короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами (CRISPR, от англ. **c**lustered **r**egularly **i**nterspaced **s**hort **p**alindromic **r**epeats) – это небольшие повторяющиеся последовательности длиной 21-37 п. н., которые разделяются так называемыми спейсерами (уникальными некодируемыми последовательностями) подобно тому, как некоторые части предложения обособляются запятыми. CRISPR были открыты в 1987 году группой исследователей во главе с Ишино́ Ёси́дзуми[1], и долгое время их биологическая функция была неизвестна. Исследования, продолженные группой Франси́ско Мо́хика[2], позволили обнаружить CRISPR у многих бактерий и архей, а также гены *cas*, кодирующие Cas-белки. Только в 2005 году они доказали, что спейсеры (те самые запятые) гораздо важнее «слов», поскольку являются последовательностями из геномов бактериофагов, придавая бактерии устойчивость к ним[3]. То есть по сути это механизм адаптивного иммунитета, бактериальный аналог иммунитета млекопитающих, где бактерия «коллекционирует» фрагменты чужеродных геномов, с которыми сталкивалась (примерно как люди хранят фотографии в фотоальбоме). В геноме *Y. pestis* обнаружено три элемента CRISPR: YP1, YP2 и YP3, спейсеры которых являются генами профагов (в соответствующем разделе они не упоминаются).

---

[1] 石野 良純 (*Ишино Ёсизуми*), р. 1959; японский молекулярный биолог. Помимо CRISPR, открыл ген *iap* в *E.coli*, секвенировав в дальнейшем весь геном.

[2] Francisco Mojica, р. 1963; испанский микробиолог, автор термина CRISPR.

[3] Mojica F. J. M., Díez-Villaseñor C. D., et al. *Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements.* J Mol Evol. 2005; 60(2):174–182; DOI: 10.1007/s00239-004-0046-3.

Последующие исследования CRISPR и открытие белка Cas9 позволили создать технологию редактирования генома (CRISPR/Cas9), за которую Эммануэ́ль Шарпантье́[1] и Дже́ннифер Энн Да́удна[2] получили Нобелевскую премию по химии 2020 года. Применение этой системы позволяет людям эффективно подавлять хромосомные гены *Y. pestis*, в частности *hmsH* и *ail*, тем самым значительно снижая её вирулентность.

* * *

Возможно, всё вышесказанное на данном этапе кажется сложным и непонятным, но это будет исправлено в следующем Акте, когда мы подробно рассмотрим патогенез. Сейчас же следует понять три вещи: во-первых, сложность и разнообразие тех механизмов, которые обеспечивают выживание бактерии в организме млекопитающего, поскольку, как можно убедиться, бо́льшая часть «механизмов» запускается только при температуре 37°C; во-вторых, многие «механизмы», кодируемые различными генами, расположенными на различных генетических структурах (будь то хромосома или плазмида), дополняют друг друга, фактически выполняя одну общую задачу; и, наконец, в-третьих, «механизмы» достаточно вариабельны у различных подвидов и могут вообще отсутствовать. Возможно, для лучшего понимания и структурирования полученной информации (создания семантической связи), эту Главу следует прочитать ещё раз, поскольку далее, говоря о патогенезе, мы неизбежно будем к ней возвращаться. А пока вспомните о близких людях и проведите с ними время, поскольку на данном этапе каждый, как и переводчик Деяний Ферраро-Флорентийского собора, должен, признавшись самому себе, сказать: «Fessus sum»[3].

---

[1] Emmanuelle Charpentier, p. 1968; французский врач, бактериолог, член Французской академии наук.

[2] Jennifer Anne Doudna, p. 1964; американский врач, биохимик, генетик, член Национальной академии наук США.

[3] Лат. «я устал»; в оригинале Деяний имеется запись: Interpres. Fessus sum (лат. «Переводчик. Я устал»).

AKT II

Vita





Сад храма Комё-ин в Киото

7 УСИДЗИМА

Небесный плавучий мост, что носится по волнам первозданного мира, отделяя его от Така́ма-но ха́ра – Равнины высокого неба, – подобно тому, как мост в Исэ́ отделяет мир ка́ми[1] от мира смертных. На нём стоят двое: Идзана́ги-но мико́то и Идзана́ми-но мико́то, мужчина и женщина, небесные ками седьмого поколения. Они берут драгоценное копьё и, погрузив его в воду, вынимают. И та капля, что упала с острого конца лезвия, стала сушей[2].

***

В павильоне храма Комё-ин[3] сидит человек, положив соломенную шляпу рядом с собой и устремив взгляд вглубь сада, называемого Храмом радужного мха. В этом месте среди камней и мхов, медленно плывущих по океану белого песка, на фоне красных и зелёных клёнов, залитых солнцем кустов цветущих рододендронов он чувствует полный покой. Здесь стоило бы провести вечность, но мысли уносят на берег реки Су́мида[4] к святилищу Усидзима, построенному по повелению ками Сусано́о-но-мико́то, брата Амате-

[1] Яп. «神» (*ками*) – в синтоизме духовная сущность, божество, дух. В отличие от ёка́й (т .е. сверхъестественной силы, существа в виде призрака или монстра) существовали изначально.

[2] Авторский пересказ японского предания о создании земли; главы 1–3 первого свитка основной книги синтоистского троекнижия «Ко́дзики» (яп. «Записи о деяниях древности»), памятника литературы VIII века. Мост в Исэ (отсутствует в предании) – отсылка к реальному деревянному мосту Удзи, являющемуся входом в мир ками, т. е. на территорию внутреннего святилища (на́йку) Исэ-дзингу, главного синтоистского святилища Японии, посвящённого верховному ками Аматэра́су-о-мика́ми, от которой, согласно верованию, происходит род императоров Японии. В Исэ-дзи́нгу хранятся национальные сокровища, в том числе священное зеркало Аматэрасу-о-миками, являющееся императорской регалией (яп. Са́нсю-но дзи́нги).

[3] Буддийский храм в городе Киото (1397) является подчинённым храму Тофу́кудзи. Главный сад создал в 1939 году ландшафтный дизайнер Сигэ́мори Ми́рэй (1896–1975), который, перед тем как создать свой первый сад, детально изучил уже существующие сады, результатом чего стала публикация 26-томного труда «Иллюстрированная история японских садов».

[4] Река в Токио, ранее называлась Ога́ва. Дала название одному из трёх сероваров *Vibrio cholera O1.*

расу-о-миками, усмирившему демона чумы, что однажды в образе быка[1] посетил святилище.

Как мы говорили ранее, быки, как и многие сельскохозяйственные животные, менее восприимчивы к чуме, чем грызуны, однако патологические процессы, протекающие в заражённом организме, схожи у всех носителей и кратко сводятся к следующему механизму[2]. Чаще всего в тело животного возбудитель проникает через кожу (укус блохи) или слизистые оболочки (пища, в том числе съеденный грызун). Далее с током лимфы он мигрирует (внутри макрофагов и реже самостоятельно) в ближайшие к месту «входа» регионарные лимфатические узлы без проявлений лимфангита (т. е. поражения периферических лимфатических сосудов). Этот процесс занимает от 10 до 60 минут. В случае укуса это, как правило, предлопаточные и подмышечные лимфатические узлы, а в случае пищи – подчелюстные и шейные лимфатические узлы, а также миндалины. Стоит отметить, что поскольку в теле носителя бактерии прогреваются до температуры, достаточной для синтеза многих факторов патогенности (в отличие от «холодной» блохи), попав в пасть хищника (по сути, второго носителя) с пищей, они более готовы к уклонению от иммунитета (выживанию), чем те бактерии, которые проникли в кожу в результате укуса, поэтому инфекционный процесс при пищевом заражении протекает быстрее.

При проникновении через кожу редко может развиться *кожная форма*, характеризующаяся петехиальной сыпью (Рис. 7.1), опуханием или специфической реакцией в месте укуса (*входных ворот*), так называемым *первичным аффектом* – пустулой с геморрагическим содержимым, язвой или карбункулом (Рис. 7.2).

---

[1] Там же находится скульптура коровы, которая, согласно поверьям, приносит здоровье. Интересно, что в легендах жителей островов Рюкю́ (Япония, до 1879 года независимое королевство) в лице защитника от демона чумы, равно как и любой другой инфекционной болезни, прибывающей на остров в лодке (образ приходящей инфекции), выступает говорящая корова. С другой стороны, из императорской хроники Нихо́н Санда́й Дзи́цуроку (яп. 日本 三代 実 録) известно, что во второй половине девятого века в столице, городе Киото, неоднократно вспыхивали эпидемии чумы, что привело к появлению фестиваля очищения (горё-э) Гио́н мацу́ри (яп. 祇園祭), проводимого в святилище Гио́н (ныне – Ясака).

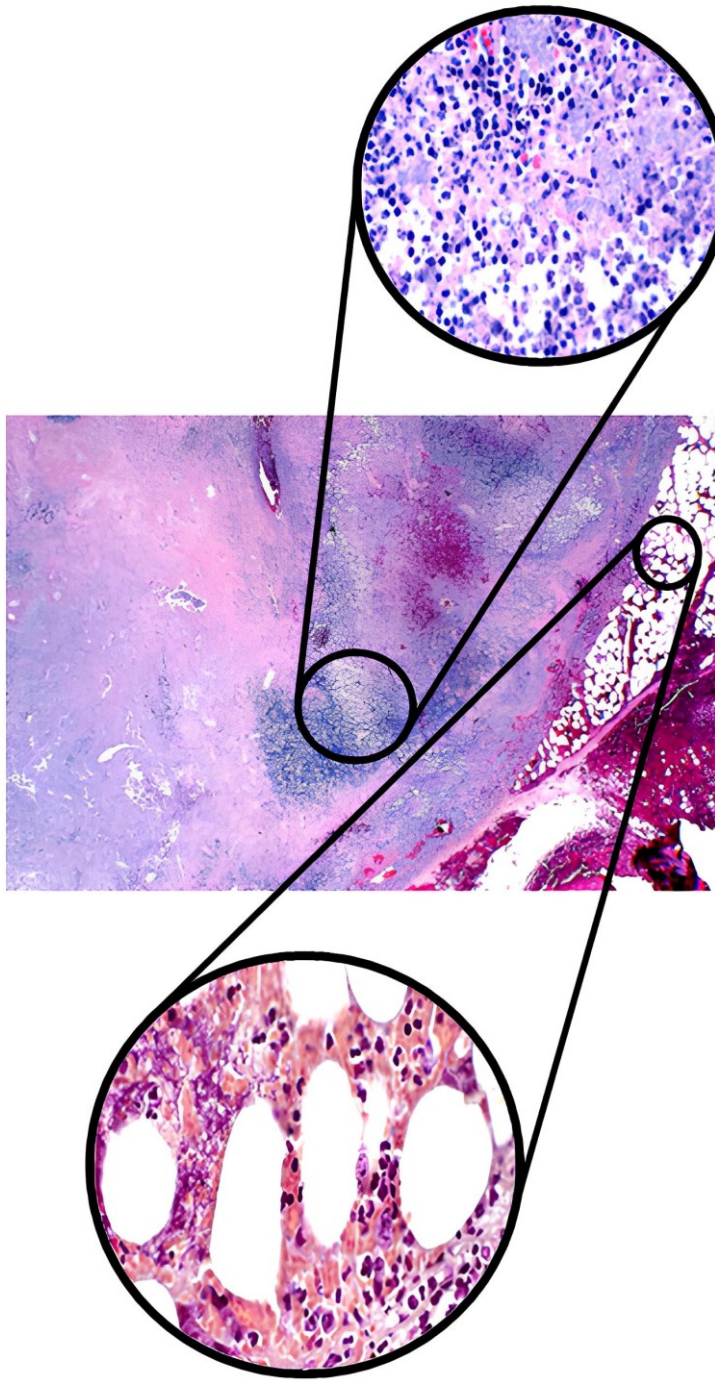
[2] Подробно патогенез мы рассмотрим на примере человека.

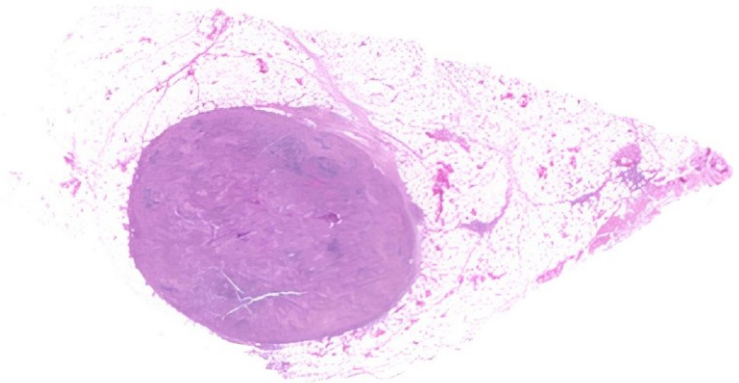


Рис. 7.1. *Петехиальная сыпь у скалистого суслика (Otospermophilus variegatus) и первичный аффект (отмечен стрелкой)*



Рис. 7.2. *Конечности кота породы мейн-кун, найденного мёртвым в доме госпитализированного человека. Передняя часть стопы и правое предплечье опухли примерно в два раза относительно нормы, имеются открытые раны на краниальной (т. е. располагающейся ближе к голове) стороне правого запястья с засохшим экссудатом (т. е. жидкостью, выделяющейся из мелких кровеносных сосудов ткани или органа при воспалении) на прилегающей к ранам шерсти (Дело WSC ID 141001, 2014; публикуется с разрешения The Joint Pathology Center)*





▲ ***Рис. 7.3.*** *Лимфатический узел и перинодальная (т. е. окружающая) жировая ткань самки белохвостой луговой собачки (Cynomys leucurus), окраска гематоксилин-эозином. Наблюдается общая потеря лимфоцитов с утрачиванием и замещением нормальной архитектуры лимфатического узла (капсулы, коркового вещества, паракортекса и мозгового вещества) некротическими остатками, отёком, фибрином, незначительными кровоизлияниями, многочисленными нейтрофилами (как дегенеративными, так и жизнеспособными) и меньшим количеством макрофагов. Поражения сосудов, характеризующиеся прерывистым эндотелием, расширением средней оболочки фибрином и отёком адвентициальной (т е. наружной) оболочки, указывают на фибриноидный васкулит. Имеются многочисленные периваскулярные (т. е. вокруг сосудов) и в меньшей степени внутрисосудистые крупные колонии коккобацилл размером 1 х 2 мкм. Указанное распространено в перинодальную жировую ткань и частично замещает её (Дело VSPO ID 764 (H-B05), JPC 2131320, 2021; публикуется с разрешения The Joint Pathology Center)*

◄ ***Рис. 7.4.*** *Ткань заглоточного лимфатического узла и перинодальная жировая ткань (ув. 2х; выделенные области ув. 40х) самки гибрида сибирского хорька и черноногого хорька (Mustela eversmanni x Mustela nigripes), окраска по Брауну – Брену (Дело WSC ID 12 (93W 9960–4), AFIP 2642052, 1998; The Wyoming State Veterinary Laboratory, публикуется с разрешения The Joint Pathology Center; авторская адаптация). Наблюдаются обширный некроз и воспаление с очагами кровоизлияния, а также множественные крупные колонии бактерий в виде красновато-синих палочек мультифокально в пределах областей нагноения и некроза*

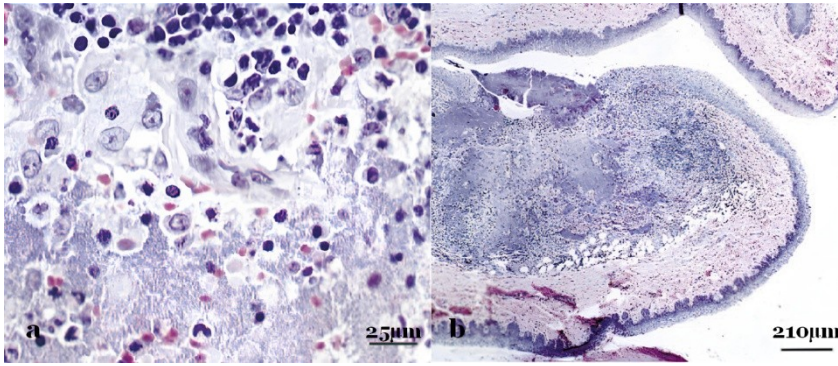


Рис. 7.5. *Ткань лимфатического узла (a) и глоточной миндалины (b) кошки, окраска гематоксилин-эозином (по Watson R.P., 2001; публикуется по лицензии SAGE Publications):*

a – наблюдаются острое некротизирующее воспаление, кровоизлияния, отёк, присутствуют массивные колонии бактерий с примесью макрофагов и дегенеративно-некротизированных нейтрофилов;

b – наблюдаются некроз лимфоидной ткани и разрыв вышележащего эпителия миндалин, массивные колонии бактерий. Паратонзиллярные (т. е. расположенные около миндалины) мягкие ткани расширены за счёт отёка, фибрина и кровоизлияний, а бактерии присутствуют в фасции соседних пучков лицевых скелетных мышц (не показано)

В коже бактерии захватываются такими фагоцитами, как макрофаги и нейтрофилы (взаимодействия с дендритными клетками практически не происходит). Бóльшая часть захваченных нейтрофилами бактерий фагоцитируется (погибнет), тогда как в макрофагах, в том числе мигрировавших в лимфатические узлы, значительная часть выживает и размножается, стимулируя синтез провоспалительных цитокинов (TNFα, IL-1, IL-6 и IL-8) и фибрина. Как следствие, развивается острая воспалительная реакция, которая сопровождается лимфаденитом (т. е. увеличением лимфатических узлов), характеризующимся тромбозом сосудов и некротическими изменениями тканей узла с вовлечением подкожной клетчатки (Рис. 7.3 – Рис. 7.5), что приводит к их слиянию в единый конгломерат, то есть образованию *бубона* (бубонная форма). Болезненность и спайка с кожей являются важными признаками в дифференциальной диагностике, поскольку, например, при туляремии, для которой тоже

характерно наличие бубона, они отсутствуют (при пальпации бубон не болит и свободно «гуляет» под кожей).

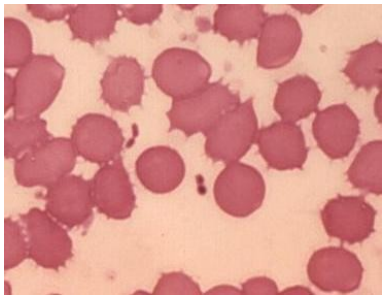


Рис. 7.6. *Микрофотография мазка крови, содержащей Y. pestis*

В результате нарушения барьерной функции лимфатического узла под действием продуктов распада макрофагов и размножения возбудителя последний проникает в кровь – наступает *бактериемия* (Рис. 7.6). Начинается лихорадка, температура тела животного повышается в среднем до 41–42°С (при норме 38–40°С).

На начальном этапе бактерии из крови «фильтруются» селезёнкой и печенью, при этом воспалительной реакции не наблюдается (отсутствует инфильтрация фагоцитов, снижен синтез провоспалительных цитокинов), что позволяет бактерии стремительно размножаться, поскольку клетки этих органов буквально служат ей питательной средой! В печени (Рис. 7.7-а) могут наблюдаться набухание гепатоцитов, вакуолярная гепатопатия (т. е. обильное накопление гликогена в гепатоцитах), дилатация и гиперемия (т. е. патологическое расширение, сопровождающееся увеличением кровонаполнения) центральной вены печёночных долек и небольшой застой в печеночном синусе, а также капсульные новообразования и некротические узелки. В селезёнке (Рис. 7.7-а) возможно уменьшение белой пульпы и отёк селезёночных тяжей красной пульпы.

Огромное количество бактерий из разрушенных печени и селезёнки устремляется в кровь, что знаменует начало *вторичной септической формы* (первичная форма реализуется при прямом попадании возбудителя в кровь, минуя лимфатические узлы). Развивается массивная септицемия (до 10^8 микробных клеток в мл крови), при которой бактерии разносятся по органам, а иногда формируются вторичные бубоны. Именно на этой стадии концентрации возбудителя в крови достаточно, чтобы обеспечить передачу инфекции через блоху (напомним, для заражения блохи достаточно 10^6 микробных клеток на мл крови!).

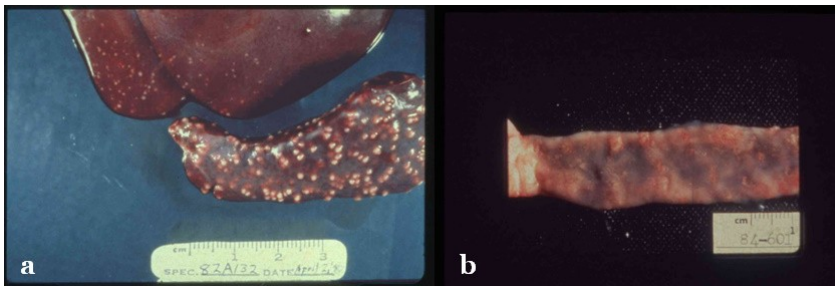


Рис. 7.7. *Поражения органов у самки лабораторного животного (изображения VP03104 и VP03257; публикуется с разрешения The Joint Pathology Center):*
a – фрагмент печени (сверху) и селезёнка;
наблюдаются капсульные новообразования и некротические узелки;
b – фрагмент кишечника;
наблюдаются некротические узелки и незначительные кровоизлияния

В качестве особого вида септической формы чумы выделяют *пульмонарную форму*, при которой капилляры обильно заполнены бактериями (редко – лейкоцитами), а вблизи крупных бронхов и сосудов можно обнаружить подвергшиеся некрозу альвеолы. В подплевральных альвеолах обнаруживается скопление серозного экссудата и бактерий, тогда как остальные альвеолы, как правило, чисты. Альвеолярный эпителий набухший и подвергнут некрозу. В бронхиолах острые воспалительные изменения и геморрагии с бактериальными скоплениями.

Во время септицемии из органов чаще всего поражаются лёгкие (*вторичная лёгочная форма*), что выражается воспалением сосудистой ткани лёгкого (васкулит) или непосредственно самой ткани лёгкого (пневмония). В последнем случае бактерии избегают взаимодействия с альвеолярными макрофагами, поэтому первые сутки происходит обильное размножение при отсутствии воспалительной реакции (предвоспалительная фаза). Затем начинается провоспалительная фаза, сопровождающаяся обильным притоком нейтрофилов и цитокиновым штормом (активностью Т-клеток, NK-клеток и макрофагов), приводящая к развитию тяжёлой гнойной многоочаговой пневмонии и, как следствие, значительному поражению лёгочной ткани (вплоть до поражения целых долей лёгкого; Рис. 7.8). Возможно слабозаметное поражение лимфатических узлов лёгких. В отсутствии лечения данная форма имеет почти 100%-ную летель-

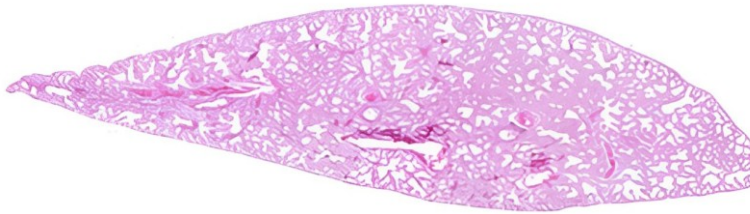


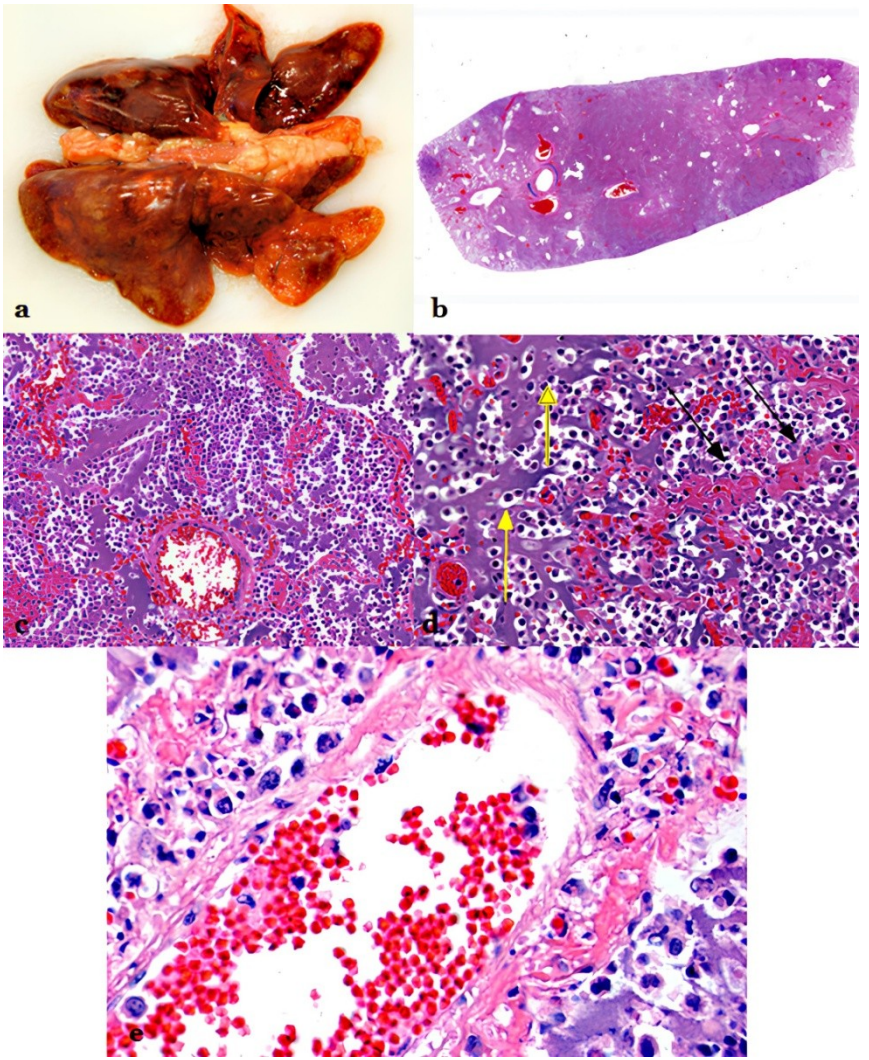
Рис. 7.8. *Лёгкое самки белохвостой луговой собачки (Cynomys leucurus), окраска гематоксилин-эозином. Наблюдается диффузный фибриноидный васкулит, характеризующийся разрывом и расширением средней оболочки фибрином, кровоизлияниями, отёком, нейтрофилами и небольшим количеством макрофагов. Периваскулярная соединительная ткань расширена за счёт отёка, фибрина и кровоизлияний. Альвеолярные перегородки гиперемированы (т. е. переполнены кровью) и расширены до 35 мкм. Альвеолярные просветы содержат небольшое количество альвеолярных макрофагов. Бронхиолы содержат небольшое количество клеточного дебриса (т. е. остатка клетки, окружённого плазматической мембраной), эритроцитов и отслоившегося респираторного эпителия (Дело VSPO ID 764 (H-B05), JPC 2131320, 2021; публикуется с разрешения The Joint Pathology Center)*

ность. Вторичная лёгочная форма, выраженная пневмонией, бывает преимущественно у кошек[1] (Рис. 7.10 и Рис. 7.11), поскольку в литературе описаны лишь единичные случаи пневмонии у собак, верблюдов (*Camelus bactrianus, Camelus dromedaris*) и чернохвостых оленей (*Odocoileus hemionus*).

Крайне редко поражаются почки (выпот капсулы, интерстициальный отёк[2] и набухание сосудов), мягкие мозговые оболочки головного мозга и верхняя часть спинного мозга (менингит; бактерии чаще обнаруживаются в ликворе) и кишечник (некротические узелки, капсулы; Рис. 7.8-b). Патологических изменений сердца, как правило, не наблюдается.

[1] Незадолго до смерти они, как правило, уходят в тихое спокойное место, где, свернувшись клубочком, умирают. Последние часы сопровождаются обильным отделением кровавой мокроты, которую нередко можно видеть засохшей на трупе (Рис. 7.9).

[2] Характеризуется острым набуханием стромы с расширением интерстициального пространства (т. е. внеклеточного пространства) без одновременного увеличения окружающих клеток или внеклеточного матрикса.


a
b
c
d
e



▲ ***Рис. 7.9.*** *Домашняя кошка, умершая от лёгочной формы чумы. Можно видеть засохшую мокроту с кровью, которую она выделила перед смертью.*

◄ ***Рис. 7.10.*** *Лёгкие (a) и ткань лёгкого (b-e) кота породы мейн-кун, окраска гематоксилин-эозином (Дело WSC ID 141001, 2014; публикуется с разрешения The Joint Pathology Center):*
a – наблюдаются множественные беспорядочно расположенные твёрдые микроочаги;
b – ув. 6.3x; наблюдается заполнение 75% альвеолярных пространств клеточным экссудатом;
c – ув. 168x; наблюдаются альвеолы, содержащие многочисленные жизнеспособные и дегенеративные нейтрофилы, и бактериальные колонии;
d – ув. 168x; в областях инфильтрации наблюдается многоочаговый некроз перегородки: с разрывом и потерей перегородки (жёлтые стрелки), со значительным расширением и замещением фибрином и клеточным детритом (т. е. разрушенными клетками; чёрные стрелки);
e – ув. 360x; наблюдается расширение стенки лёгочной вены нейтрофилами, клеточным детритом и отёком (васкулит)

При посмертном вскрытии бактерии обнаруживаются в поражённых лимфатических узлах, почках, селезёнке, кровяном сгустке в сердце, головном и костном мозге (располагается в бедренных костях).

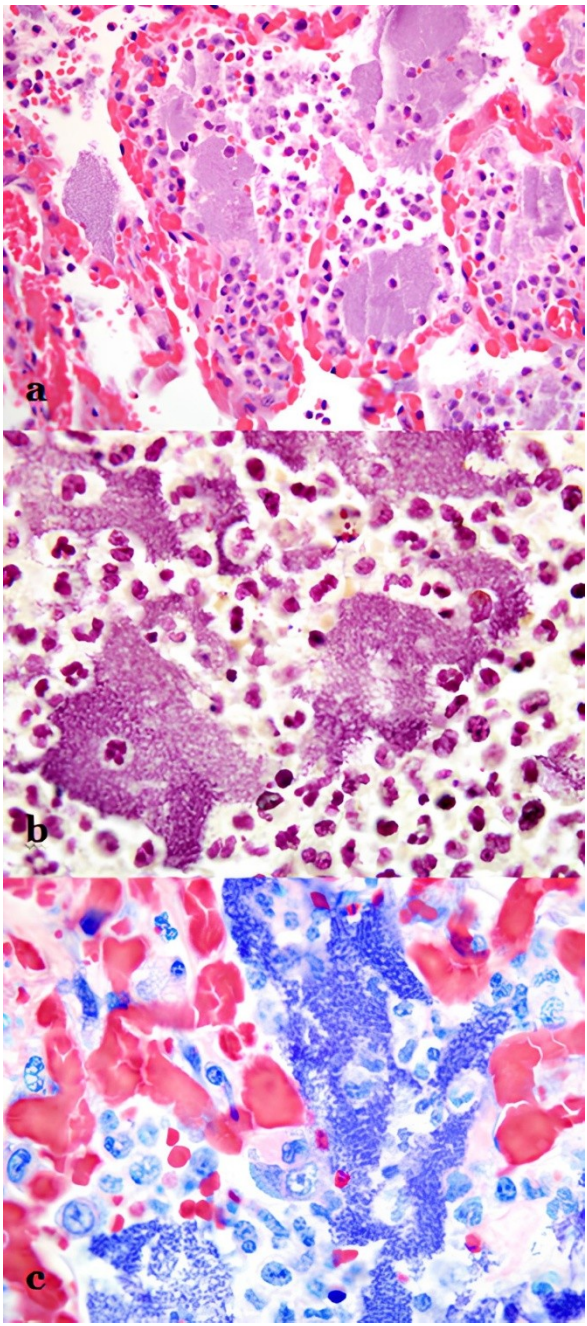


Рис. 7.11. *Ткань лёгкого 7-летней стерилизованной домашней короткошёрстной кошки (Felis catus). Наблюдаются альвеолы, содержащие многочисленные нейтрофилы (жизнеспособные и дегенеративные) и меньшее количество макрофагов, с большими колониями бактерий размером 1 x 3 мкм (Дело WSC ID 090303, 2009; публикуется с разрешения The Joint Pathology Center):*

a – ув. 1000x, окраска гематоксилин-эозином;

b – ув. 1000x, окраска Brown-Hopps Gram (BH);

c – ув. 1000x, окраска по Гимзе

Тут следует оговориться, что у грызунов в случае заражения высоковирулентным штаммом после появления бубона (бубонов), спленомегалии (т. е. увеличения селезёнки) и поражения печени чаще всего наступает смерть (3–5 день заражения) без признаков системного поражения иных органов. Опыт[1] по заражению мыши биолюминисцентным штаммом *Y. pestis* CO90(pLux) [2] показал (Рис. 7.12), что после поражения вторичных лимфоидных органов (к которым относятся лимфатический узел, селезёнка и печень) наступает септицемия, выраженная биолюминесценцией всего животного, включая периферические участки (уши и хвост). Интересно, что между поражением вторичных лимфоидных органов (стадия E) и септицемией (стадия F) не обнаружено биолюминесценции в анатомических участках, соответствующих лёгким, а также почкам и кишечнику. Биолюминесценция этих органов не обнаруживается и при патологоанатомическом вскрытии.

В случае заражения менее вирулентным штаммом обнаруживаются сильные поражения селезёнки и незначительные поражения печени и лёгких в виде некротических узелков, а смерть наступает примерно за неделю. У собак чаще всего болезнь сопровождается лихорадкой, но без системного поражения органов, тогда как у кошек на фоне лихорадки и вялости всегда обнаруживается лимфаденопатия (т. е. пальпаторно ощутимое увеличение лимфатических узлов), абсцессы, поражения селезёнки, печени и лёгких, причём последнее может сопровождаться гнойной пневмонией. Тут следует напомнить, что кошки – основные млекопитающие[3], способные наряду с человеком осуществлять аэрогенный механизм передачи инфекции (заражать других и заражаться сами). Причём заражение может происходить как путём вдыхания «чумного аэрозоля»,

---

[1] Nham T., Filali S., et al. *Imaging of bubonic plague dynamics by in vivo tracking of bioluminescent Yersinia pestis*. PLoS One. 2012; 7(4):e34714; DOI: 10.1371/journal.pone.0034714.

[2] Получен путём введения в штамм *Y. pestis* CO92 плазмиды pGEN-*luxCDABE*, содержащей оперон *luxCDABE* из *Photorhabdus luminescens* под контролем промотора *Pem7*.

[3] Имеются сообщения о первичной лёгочной форме у собак (см. далее). Кроме того, первичная лёгочная чума возможна у таких восприимчивых животных, как морская свинка, суслик, кролик и мышь, о чём свидетельствуют результаты лабораторных исследований на этих животных. Однако в природе первичная лёгочная форма у этих животных не встречается (равно как и вторичная), поскольку смерть наступает до того, как она успеет развиться.

так и, в отличие от человека, в процессе питания, когда попавшие в пасть с инфицированным мясом бактерии уносятся в лёгкие потоком вдыхаемого воздуха. В обоих случаях это *первичная лёгочная форма*, которая протекает аналогично вторичной, с последующим развитием бактериемии (разрушение печени и селезёнки) и септицемии, редко возможно поражение бронхиальных лимфатических узлов.

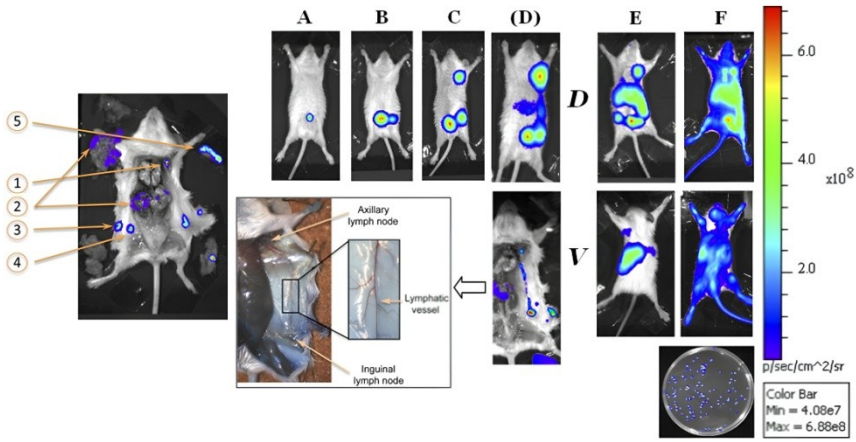


Рис. 7.12. *Стадии инфекционного процесса in vivo у мыши при экспериментальном заражении биолюминисцентным штаммом Y. pestis CO92(pLux); изображения получены на приборе IVIS100. На начальном этапе (стадия A) биолюминесценция ограничена местом инъекции. Затем она достигает пахового лимфатического узла (стадия B), с одной или обеих сторон, после чего визуализируется в ипсилатеральном (т. е. расположенном на той же стороне) подмышечном лимфатическом узле (стадия C). Иногда свечение обнаруживается в виде тонкой линии между лимфатическими узлами (дополнительная стадия (D), верхнее изображение), что соответствует соединяющему их лимфатическому сосуду (дополнительная стадия (D), нижнее изображение), по которому осуществляется миграция бактерий до бактериемии. На изображении в рамке показан данный лимфатический сосуд, обнаруживаемый при вскрытии. Затем биолюминисценция распространяется на поддиафрагмальную зону (положение D), анатомически соответствующую печени, на зону спины (положение V), анатомически соответствующую селезёнке (стадия E) и, наконец, на всё тело (стадия F). Положения: D – дорсальное, V – вентральное. Слева показано посмертное патолого-* ►

8 ПЕРВИЧНАЯ ЛЁГОЧНАЯ ЧУМА У СОБАК

Ранее мы говорили, что для собак характерна бубонная и септическая формы чумы и они не болеют лёгочной формой, представляя опасность для человека только в качестве носителя чумных блох, однако в любом правиле существуют исключения.

20 июля 2009 года 34-летний пастух, живущий в уезде Синхай[1] (Хайнань-Тибетский автономный округ провинции Цинхай, Китай), искал потерявшуюся собаку. Найдя задыхающейся, он принёс её домой. У собаки был сильный кашель с кровянистой мокротой, и через 2 дня она умерла. Пастух похоронил её, отнеся на своих плечах вниз по склону примерно в полукилометре от дома. На следующий день при аналогичных симптомах умерла его вторая собака. Уже 24 июля во второй половине дня пастух почувствовал недомогание, а на следующий день у него поднялись температура и появился кашель, поэтому, несмотря на уход со стороны жены и двух сыновей, 26 июня его отвёз на мотоцикле в сельскую поликлинику младший брат. Приём осуществляли два врача, которые не имели средств индивидуальной защиты органов дыхания. Пер-

► *анатомическое вскрытие, на котором обнаруживается биолюминесценция подмышечных (1) и паховых (4) лимфатических узлов, печени (2; одна доля удалена и представлена рядом), селезёнки (5; удалена и представлена рядом), а также место инъекции (3), разделённое на две части во время вскрытия. Кишка удалена и представлена рядом с правой задней ногой. Брюшина, включая часть очага инфекции (видна биолюминесценция), удалена и представлена рядом с левой задней ногой. Справа показана шкала интенсивности биолюминесценции, закодированной на изображениях от индиго (4,1 x 107 фотон/сек·см2·стерадиан) до красного (6,9 x 108 фотон/сек·см2·стерадиан). Минимальное значение биолюминесценции для лимфатического узла составляет 1,5 x 104 КОЕ/мл, для печени – 1,3 x 105 КОЕ, для селезёнки – 8,3 x 105 КОЕ/мл. Справа снизу показана биолюминесценция вводимой бактериальной культуры для наглядности*
(по Nhat T., 2012; авторская адаптация)

[1] Природный очаг чумы, подтверждённый в августе 1956 года (первый случай заражения человека произошёл в августе 1962 года).

вый врач осмотрел горло пациента, а второй поставил капельницу. Они описали симптомы пациента как лихорадку, кашель с кровянистой мокротой, бледность лица и боль в груди. Врачи посоветовали отвезти пациента в больницу, что было осуществлено двумя старшими братьями и младшим. По дороге у пациента возникла внезапная дисфория (т. е. глубокое состояние беспокойства) и рвота. Он скончался 26 июля в 5 часов вечера (через 4 дня после смерти первой собаки). В тот же день труп был доставлен домой, где уже упомянутые два младших и два старших брата, а также тесть и племянник совершили необходимые обряды согласно тибетской традиции. На следующий день рано утром его похоронили. Через 2–4 дня у всех 12 участников этой истории (во время пребывания в больнице больного посетил друг) внезапно поднялась температура, сопровождающаяся болью в груди и кашлем с кровянистой мокротой (врач, который ставил капельницу, остался здоров). Друг и тесть умерли.

Чумной микроб (bv. antiqua) был выявлен в образцах лёгких обеих мёртвых собак и пастуха, в образцах мокроты врача и друга, в образцах мокроты и мазке из горла одного из старших братьев. Из образцов других участников этой истории выделить чумной микроб не удалось, поскольку все изначально получали профилактическую антибиотикотерапию. Из образцов мокроты выделялся только капсульный антиген (у врача течение болезни было затяжным, поэтому капсульный антиген выделялся из мокроты до двадцатого дня болезни).

Проведённое эпидемиологическое расследование [1] установило, что собака вероятнее всего заразилась от мяса мёртвого сурка (у сурков данной местности были обнаружены антитела к капсульному антигену). У неё развилась первичная лёгочная форма чумы (путём заноса бактерий из пасти в лёгкие с вдыхаемым воздухом), и она смогла реализовать аэрогенный механизм передачи возбудителя, в результате чего у всех участников этой истории развилась также первичная лёгочная форма чумы. Кроме того, у пациента был ещё 61 прямой и 256 непрямых контактов, однако все эти люди не были инфицированы.

[1] Wang H., Cui Y. *A dog-associated primary pneumonic plague in Qinghai Province, China.* Clin Infect Dis. 2011; 52(2):185–190; DOI: 10.1093/cid/ciq107.

Другие две истории произошли в штате Колорадо (США)[1].

В июне 2014 года в ветеринарную клинику был доставлен двухлетний домашний кобель смешанной породы для оценки жёсткости челюсти, слюнотечения, бледности слизистых оболочек, а также хромоты на правую переднюю конечность. На осмотре у собаки имелись лихорадка (41°C) с лёгкой лейкопенией (5,32 х 10^9 кл/л, норма 6–17 х 10^9 кл/л)[2] и тромбоцитопенией (56 х 10^9 кл/л, норма 200–500 х 10^9 кл/л). В декабре 2017 года в ветеринарную клинику была доставлена трёхлетняя собака смешанной породы по поводу вялости последние 8 часов, анорексии и дрожи, которым предшествовал лёгкий 2-дневный кашель. На осмотре у собаки имелись лихорадка (39,5°C) с лейкоцитозом (23,4 х 10^9 кл/л, норма 5–16 х 10^9 кл/л) и нейтрофилией (18,9 х 10^3 кл/мкл, норма 2,6–11 х 10^3 кл/мкл). В обоих случаях собаки были подвергнуты эвтаназии. У них были некрогеморрагическая и гнойная пневмонии, вызванные Y. pestis (первичная лёгочная чума), определённые только на патологоанатомическом исследовании (Рис. 8.1 и Рис. 8.2), тогда как прижизненными диагнозами были ушиб лёгкого (2014) и инородное тело / аспирационная пневмония (2017). Компьютерная томография (Рис. 8.3) и рентгенограммы (Рис. 8.4), сделанные при жизни, также оказались малоинформативными и не помогли поставить верный диагноз.

Один из хозяев первой собаки был госпитализирован через 5 дней после обращения в ветеринарную клинику (всего подтверждено 4 случая), в случае второй собаки инфицирования людей не было. Владельцы обеих собак позже отмечали, что видели мёртвых луговых собачек, а во втором случае были сделаны рентгенограммы грудной клетки, однако редкость данной формы и межэпизоотический период стали препятствием к корректной диагностике.

Представленные случаи являются единичными, но наглядно показывают, что крайне редко собаки могут не только болеть первич-

[1] Schaffer P. A., Hershkowitz C. S., et al. *Delayed diagnosis of fatal pneumonic canine plague: clinical and pathologic features in two naturally infected Colorado dogs*. BMC Vet Res. 2020; 16:160; DOI: 10.1186/s12917-020-02361-z.

[2] Здесь и далее референсные (норма) значения будут указываться, если результат анализа отклоняется от них.

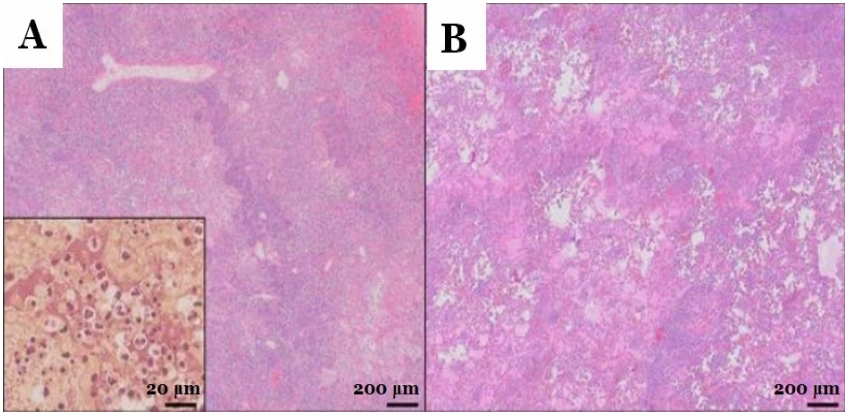


Рис. 8.1. *Ткани лёгкого собаки случая 2014 года (A) с диффузной тяжёлой некрогеморрагической пневмонией и большим количеством бактерий внутри очага поражения, и собаки случая 2017 года (B) с аналогичной патологией, но без бактерий внутри очага поражения, окраска гематоксилин-эозином, вставка окрашена по Граму (по Schaffer P. A., 2020)*

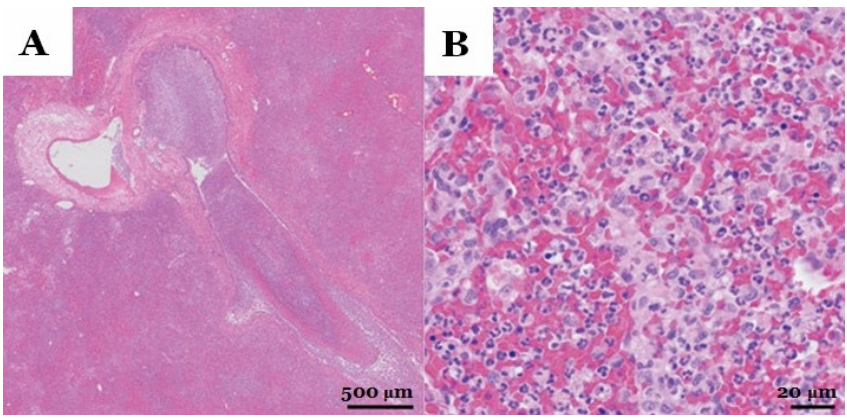


Рис. 8.2. *Ткани добавочной доли лёгкого (случай 2017 года), окраска гематоксилин-эозином. Наблюдается диффузно сглаженная паренхима (A) и альвеола (B), скрытая некрозом, кровоизлиянием и гнойным воспалением, но без бактерий внутри очага поражения (по Schaffer P.A., 2019)*



Рис. 8.3. *Поперечная компьютерная томография собаки (случай 2017 года) на второй день госпитализации. Наблюдается консолидация добавочной доли лёгкого (по Schaffer P. A., 2019)*

ной лёгочной формой чумы, но и реализовать аэрогенный механизм передачи инфекции, представляя серьёзную угрозу здоровью человека, и, возможно, даже большую, чем кошки, ввиду крайней редкости указанного явления. Обращает внимание ещё и то обстоятельство, что в случае 2009 года одна собака смогла передать инфекцию воздушно-капельным путём другой собаке, обнаруживая восприимчивость этих животных к аэрогенному заражению.

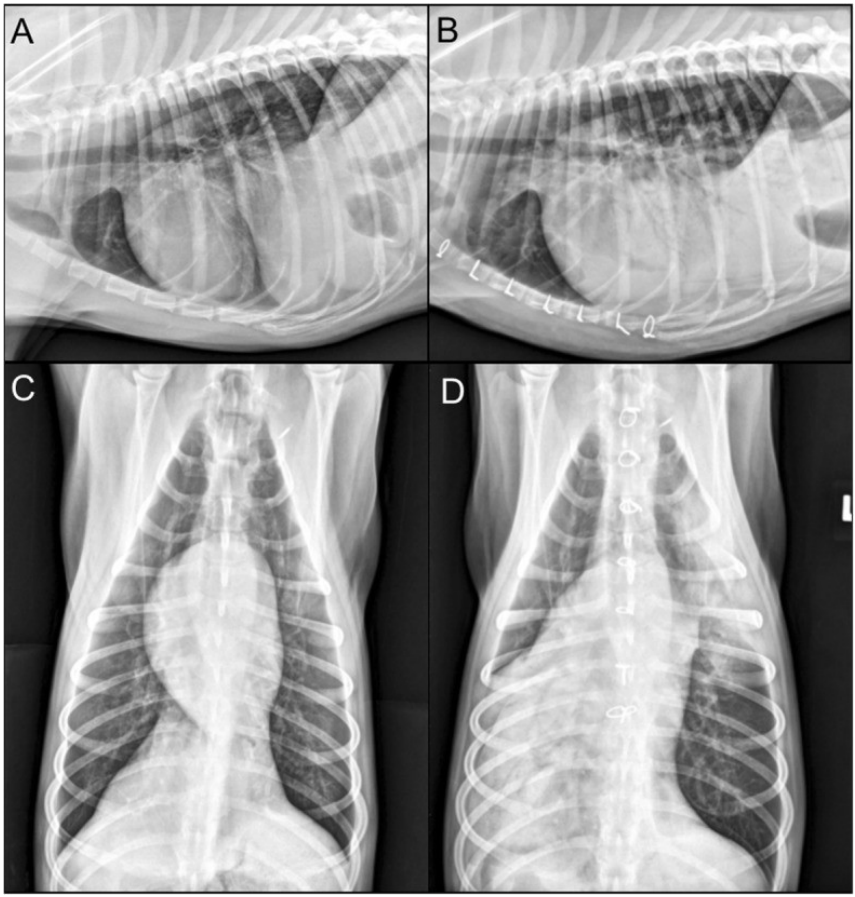


Рис. 8.4. *Рентгенограммы грудной клетки собаки (случай 2017 года). Левая боковая (A) и вентрально-дорсальная визуализации (C) грудной клетки, сделанные при поступлении, демонстрируют плохо определённые альвеолярные узоры в правой добавочной доле лёгкого, тогда как на рентгенограммах в тех же положениях (B и D соответственно), сделанных через 5 дней госпитализации, множественные доли лёгкого имеют пятнисто-долевой альвеолярный рисунок (по Schaffer P. A., 2020)*

9 PESTIS CAMELORUM

В 1907 году Николай Николаевич Клодницкий (тот самый, которому писал телеграмму заразившийся чумой Ипполит Александрович Деминский) зарегистрировал случай заражения чумой верблюдов Астраханской губернии, где от мяса больного верблюда погибло 11 человек[1]. В 1976 году[2] в отдалённой ливийской деревне был забит больной верблюд, а все пять человек, участвовавших в этом, скончались в течение четырёх дней от чумы. В 1994 году[3] на северо-западе Саудовской Аравии зарегистрированы случаи тяжёлого лимфаденита у людей, употреблявших в пищу сырую верблюжью печень. При этом *Y. pestis* была выделена не только из костного мозга верблюда, но и от краснохвостых песчанок (*Meriones libycus*), отловленных в его загоне. В феврале 1997 года[4] в иорданской деревне Азрак-ад-Друз также выявлены случаи заражения чумой от употребления в пищу мяса верблюда (сообщается, что в одном случае – после его приготовления). Все эти, а также многие другие примеры позволили выделить *чуму верблюдов* (*Pestis camelorum*) в качестве самостоятельного заболевания. И это особенно интересно, поскольку другие крупные сельскохозяйственные животные (лошади, слоны, буйволы) мало восприимчивы к чуме.

Отличительной особенностью патогенеза чумы верблюдов является поражение не только внутренних, но и наружных лимфатических узлов. Особенно сильно поражаются подчелюстные лимфатические узлы при аэрогенном заражении. Поражение лимфатических узлов конечностей приводит к хромоте, ввиду чего животному тяжело подниматься и ложиться. Бубоны крупные, достигающие размером кулака взрослого человека (Рис. 9.1). Иногда они разру-

[1] Интересно, что некоторое время эти сведения ставились под сомнения, поскольку заразить верблюдов в лабораторных условиях не получалось.

[2] Christie A. B., Chen T. H., et al. *Plague in camels and goats: their role in human epidemics.* J Infect Dis. 1980; 141(6):724–726; DOI: 10.1093/infdis/141.6.724.

[3] Bin Saeed A. A., Al-Hamdan N. A., et al. *Plague from eating raw camel liver.* Emerg Infect Dis. 2005; 11(9):1456–1457; DOI: 10.3201/eid1109.050081.

[4] Arbaji A., Kharabsheh S., et al. *A 12-case outbreak of pharyngeal plague following the consumption of camel meat, in north-eastern Jordan.* Ann Trop Med Parasitol. 2005; 99(8):789–793; DOI: 10.1197/13648590X65161.

шаются полностью, формируя образования из некротизированной ткани, фибрина и гноя, которые на вскрытии определяются крошковатой массой белого или серого цвета. Вместе с тем поражения внутренних органов поверхностны и характеризуются небольшими кровоизлияниями в слизистых оболочках, а также незначительными уплотнениями в лёгких, которые иногда заполняются кровавой пенистой жидкостью. Крайне редко можно обнаружить очаги некроза в ткани надпочечников.

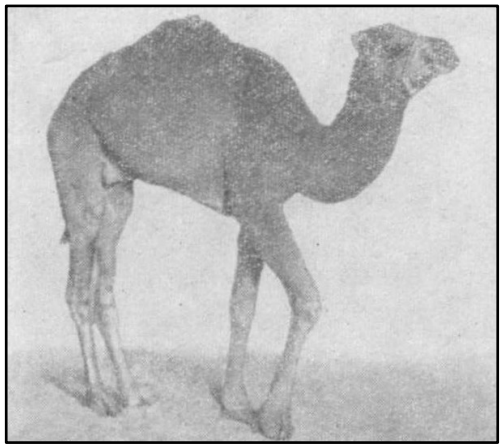


Рис. 9.1. *Чумной бубон под правой лопаткой верблюда (по Орлов Ф. М., 1973)*

Заболевание, как и в случае остальных носителей, сопровождается повышением температуры тела, общим угнетением, вялостью, слабостью конечностей. Редко можно наблюдать дрожь в мышцах туловища. Аппетит снижается и со временем пропадает вовсе, что приводит к истощению. Возможны спонтанные аборты (выкидыши). При поражении лёгких возможно развитие пневмонии, одышка, кашель, однако бактерии обнаруживаются только в выделениях из носа, кале[1], моче и молоке (последнее можно употреблять в пищу после кипячения). Характерна предсмертная поза животного: оно лежит на боку, делает плавные движения конечностями, а голова запрокинута к спине. В таком положении оно умирает, и только по характерному положению скелета можно определить причину смерти.

[1] Вопрос о том, как чумные бактерии попадают в испражнения, достаточно дискуссионный. Согласно первой версии они попадают путём выделения с желчью (в желчь попадают из печени); согласно второй – путём заглатывания инфицированной слюны или мокроты; наконец, согласно третьей – гематогенным путём попадают в полость кишечника, а оттуда – в кал.

10 ЧУМА ОРГАНОВ ЗРЕНИЯ

8 августа 1987 года в Форт Хантер Лиггетт (штат Калифорния, США) была доставлена умершая по дороге взрослая самка черно-хвостого оленя (*Odocoileus hemionus columbianus*)[1]. Животное было внешне здорово, без повреждений и внешних признаков травмы. Единственной особенностью был экзофтальм (т. е. выпячивание глазного яблока), соответственно, с увеличением обоих глазных яблок: 5,5 и 6 см в диаметре и весом 22 и 24 г, что примерно в два раза больше относительно нормы (Рис. 10.1). Отделённые глазные яблоки и аспираты жидкости из заднего сегмента глаза были переданы в Лабораторию исследований дикой природы Калифорнийского департамента рыбы и дичи и Учебную ветеринарную больницу Калифорнийского университета в Дэвисе для идентификации. Бактериологические посевы положительны на *Y. pestis* (в мазках с конъюнктивы обнаружены *Enterobacter aerogenes* и *Enterobacter cloacae*). Патологические изменения (Рис. 10.2) в обоих глазных яблоках идентичны и позволяют говорить о панофтальмите (т. е. остром гнойном воспалении глаза). В передних и задних сегментах глаза наблюдаются некротический клеточный дебрис и дегенерирующие воспалительные клетки (в основном нейтрофилы). Сосудистая оболочка и сетчатка заметно инфильтрированы нейтрофилами, а мононуклеарная сетчатка отслоена и дегенерировала во многих областях. Воспалительный процесс распространился кпереди и окружает хрусталик, однако роговица и конъюнктива инфицированы минимально. Вероятнее всего, воспалительный процесс исходил из сосудистой оболочки и нарастал в наибольшей степени в заднем сегменте. Некротизирующий васкулит выражен в мелких артериях, снабжающих кровью сетчатку.

[1] Jessup D. A., Murphy Ch. J., et al. *Ocular Lesions of Plague (Yersinia pestis) in a Black-Tailed Deer (Odocoileus hemionus columbianus).* Journal of Zoo and Wildlife Medicine. 1989; 20(3):360–363.



Рис. 10.1. *Голова самки чернохвостого оленя с увеличенным глазным яблоком (по Jessup D. A., 1989; публикуется с разрешения The American Association of Zoo Veterinarians)*

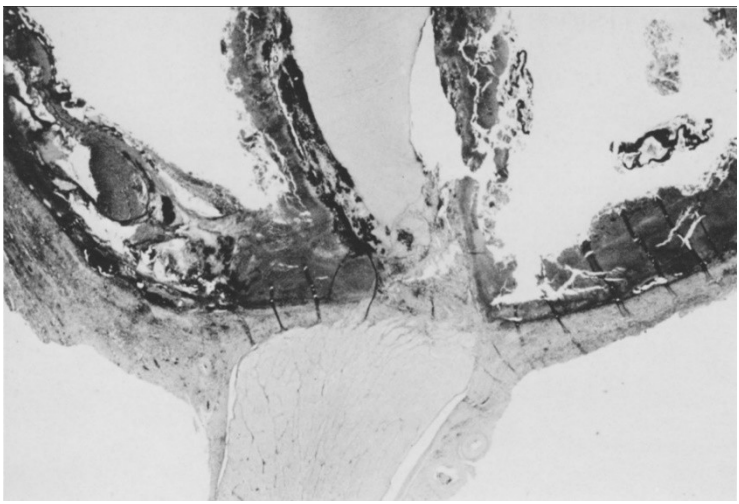


Рис. 10.2. *Задняя часть глаза самки чернохвостого оленя (ув. 20х), окраска по Брауну – Брену, гематоксилин-эозином, PAS (по Jessup D. A., 1989; публикуется с разрешения The American Association of Zoo Veterinarians)*



Рис. 10.3. *Карта мест обнаружения чернохвостых оленей с чумой глаз (красной линией условно обозначена граница природных очагов, которая совпадает с естественным ареалом обитания вида)*

До данного случая лишь раз сообщалось[1] о чуме у чернохвостого оленя (*Odocoileus hemionus*), однако тот случай ограничивался фибринозным плевритом (т. е. воспалением плевральных листков с отложением на них плеврина в виде сухого налёта), редкими лёгочными абсцессами в вентральных долях лёгких и выраженной торакальной лимфаденопатией. Заражение чернохвостого оленя чумой является ещё более редким явлением, чем чума верблюдов – до случая 1987 года сообщений о чуме глаз нет, а после известно только о 3 случаях[2] из штатов Вайоминг и Орегон (D2-D4, Табл. 10.1), чья территория, как мы говорили ранее, располагается в зоне природной очаговости чумы (Рис. 10.3).

[1] Thorne E. T., Quan T. J., et al. *Plague in a free-ranging mule deer of Wyoming.* J Wildl Dis. 1987; 23(1):155–159; DOI: 10.7589/0090-3558-23.1.155.

[2] Edmunds D. R., Williams E. S., et al. *Ocular plague (Yersinia pestis) in Mule Deer (Odocoileus hemionus) from Wyoming and Oregon*. J Wild Dis. 2008; 44(4):983–987; DOI: 10.7589/0090-3558-44.4.983.

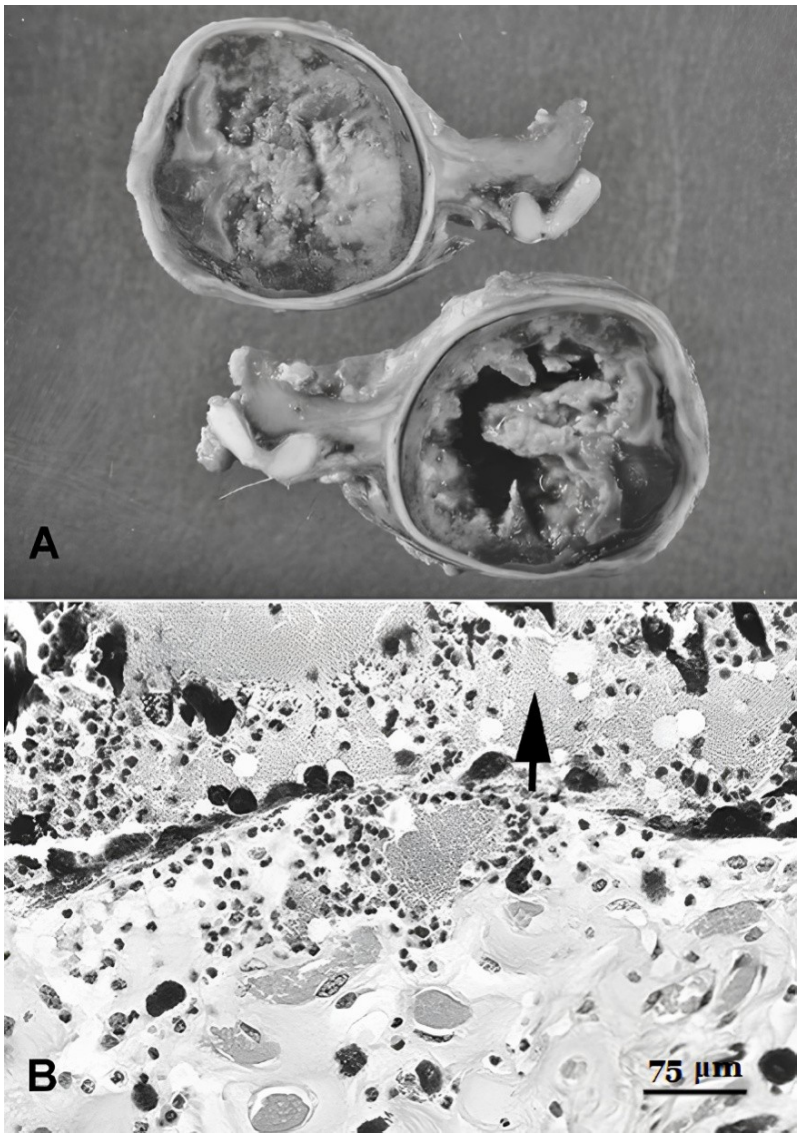


Рис. 10.4. *Органы зрения чернохвостого оленя (случай D3), окраска гематоксилин-эозином (по Edmunds D.R., 2008; публикуется с разрешения The Journal of Wildlife Diseases, The Wildlife Disease Association):*
A – сагиттальный срез глаз с выраженным фиброзно-гнойным воспалением и некрозом внутренних оболочек;
B – ткань сосудистой оболочки (вверху) и склеры (внизу) с гнойным воспалением и многочисленными бактериями внутри очагов поражения (стрелки)

Табл. 10.1. Случаи чумы органов зрения у чернохвостого оленя

Случай	Место обнаружения		Пол	Диагноз
	координаты	регион		
D1		Форт Хантер Лиггетт, Штат Калифорния	самка	Панофтальмит
D2	41.1531°N 105.2977°W	Округ Олбани, Штат Вайоминг	самец	Кератоконъюнктивит на фоне многоочаговой некротизирующей и фибринозно-гнойной пневмонии, диссеминированного некротического лимфаденита
D3	44.4161°N 118.9519°W	Округ Грант, Штат Орегон	самец	Двусторонний экзофтальм с сопутствующими кератоконъюнктивитом и изъявлением роговицы (Рис. 10.4) на фоне лёгкого негнойного энцефалита[1]
D4		Округ Грант, Штат Орегон	самка	Посмертная отслойка сетчатки с вероятным панофтальмитом

Из трёх случаев два относятся к кератоконъюнктивиту (т. е. сочетанному воспалению роговицы и конъюнктивы), который сочетается с типичными для чумы лимфаденитом и пневмонией, что позволяет предположить, что бактерии были занесены в глаза током крови во время бактериемии. Вместе с тем с одной стороны, как уже ранее часто говорили, крупные копытные животные достаточно редко подвергаются инфицированию *Y. pestis*, но с другой – поражения глаз отсутствуют у всех животных, даже у высоковосприимчивых грызунов и человека, что указывает на индивидуальную способность чумного микроба поражать глаза чернохвостых оленей.

[1] Вероятно, не чумного генеза (т. е. происхождения).

11 ЧУМА ОРГАНОВ ПИЩЕВОРЕНИЯ

Александр Йерсен в своей знаменитой статье 1894 года[1] сообщает, что если скармливать крысам и мышам фрагменты селезёнки и печени животных, умерших от чумы, то они также будут смертельно инфицированы. Конечно, в природе грызуны преимущественно не плотоядны (за исключением крайне редкого употребления в пищу мертворождённых однопомётников в норах), чего не скажешь о хищниках, таких как койоты, собаки и кошки, которые, как говорилось ранее, при поедании инфицированных носителей (грызунов) заражаются сами. При этом чаще всего у них реализуется бубонная форма чумы, при которой поражаются преимущественно подчелюстные и шейные лимфатические узлы и миндалины, реже – лёгочная, при которой развивается пневмония и возможно поражение бронхиальных лимфатических узлов. Однако опытным путём на мышах (*Mus musculus*), крысах (*Rattus rattus*) и хомячках (*Zygodontomys pixuna*) было показано[2], что пищевое инфицирование может приводить к летальному исходу без развития бубонной и лёгочной форм. Патологоанатомическое вскрытие показывает отсутствие патологии в лёгких[3], поджелудочной железе и почках, однако обнаруживает (Рис. 11.1) характерную для чумы патологию селезёнки и печени, а также незначительные изменения со стороны желудочно-кишечного тракта, хотя слизистая оболочка кишечника интактна (т. е. не изменена) на всём его протяжении. Брыжеечные лимфатические узлы и пейеровы бляшки гиперплазированы (т. е. имеют изменённое строение, сопровождающееся увеличением количества составляющих ткань клеток), с повышенным количеством мононуклеарных клеток в синусах (в некоторых обнаруживаются бактерии даже спустя 72 часа). При этом энтерит или абсцесс в тонком кишечнике отсутствуют, а экскреция бактерий с фека-

[1] Имеется в виду уже упоминаемая ранее статья: Yersin A. *La peste bubonique a Hong-Kong.* Ann Inst Pasteur (Paris). 1894; 8:662–667.

[2] Butler T., Fu Y. S., et al. *Experimental Yersinia pestis infection in rodents after intragastric inoculation and ingestion of bacteria.* Infect Immun. 1982; 36(3):1160–1167; DOI: 10.1128/iai.36.3.1160-1167.1982.

[3] В данном случае это исключает вдыхание или аспирацию бактерий, то есть доказывает, что животные были инфицированы через желудочно-кишечный тракт.

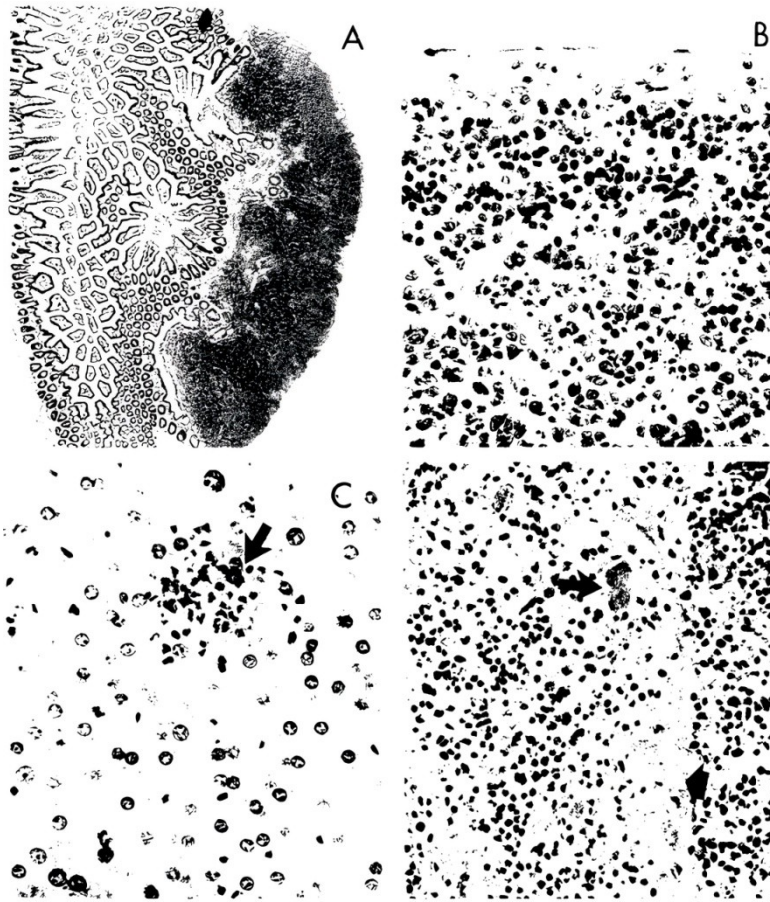


Рис. 11.1. *Патологические изменения у мышей, окраска гематоксилин-эозином и по Брауну – Брену (по Butler T., 1982; публикуется по лицензии The American Society of Microbiology, разрешение передано через Copyright Clearance Center, Inc.):*
A – ув. 31х; фрагмент терминального отдела подвздошной кишки. Наблюдается лимфоидная гиперплазия пейеровых бляшек. Покрывающая пейерову бляшку и ворсинки слизистая оболочка интактна;
B – ув. 320х; ткань брыжеечного лимфатического узла. Наблюдается увеличение количества мононуклеарных клеток;
C – ув. 400х; ткань печени. Наблюдаются микроабсцессы со скоплением нейтрофилов (отмечено стрелкой);
D – ув. 320х; ткань красной пульпы селезёнки. Наблюдается обширный некроз с нейтрофильной инфильтрацией, присутствием макрофагов (отмечено большой стрелкой) и большим количеством внеклеточных бактерий (отмечено малой стрелкой)

лиями происходит крайне редко.

В отличие от других представителей рода *Yersinia* (в частности, *Y. enterocolitica*), для которых характерны острые абсцессы пейеровых бляшек и брыжеечных лимфатических узлов, оральное заражение *Y. pestis* приводит к минимальной патологии кишечника, что указывает на генерализованную системную инфекцию (т. е. распространение возбудителя преимущественно лимфо-гематогенным путём), а не кишечную форму. Место «перехода», то есть конкретный анатомический участок, где бактерии пересекают поверхность эпителия желудочно-кишечного тракта, остаётся неизвестным. Вероятнее всего, это слизистая брюшного отдела пищевода или проксимального отдела желудка, поскольку бактерии не могут противостоять действию желудочного сока (*Y. pestis* гибнет при pH < 3).

Таким образом, инфекционный процесс при реализации алиментарного механизма заражения может протекать без развития бубонной или вторичной лёгочной форм, переходя из органов желудочно-кишечного тракта в генерализованную инфекцию, обнаруживая характерные для вторичной септической формы поражения селезёнки и печени, а также незначительные поражения лимфоидных структур тонкого кишечника (как правило, его нижнего отдела).

12 ЧУМА У ПРИМАТОВ

Приматы в природе не заражаются чумой, однако они используются в качестве модельных животных, наряду с морскими свинками (эталон) и мышами, в экспериментах по доклинической оценке вакцин-кандидатов и новых методов лечения, особенно когда моделируется первичная лёгочная (ингаляционная) чума, поскольку в отличие от бубонной и септической она достаточно долго протекает бессимптомно. В качестве приматов используют взрос-

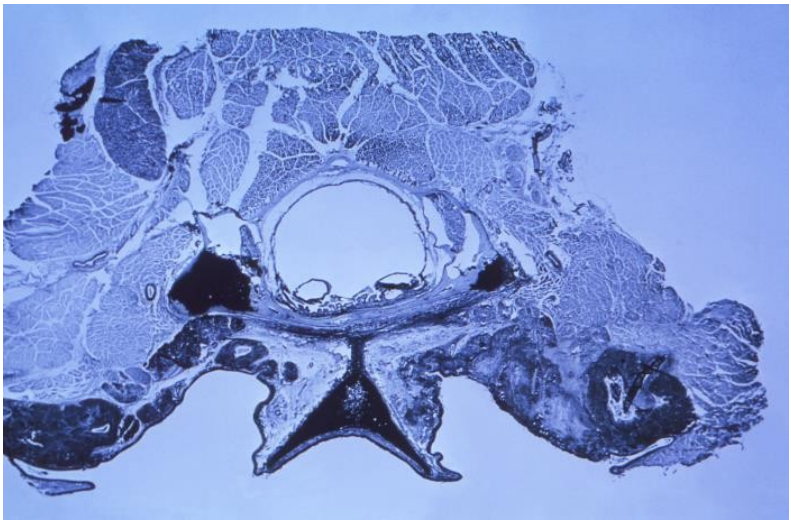
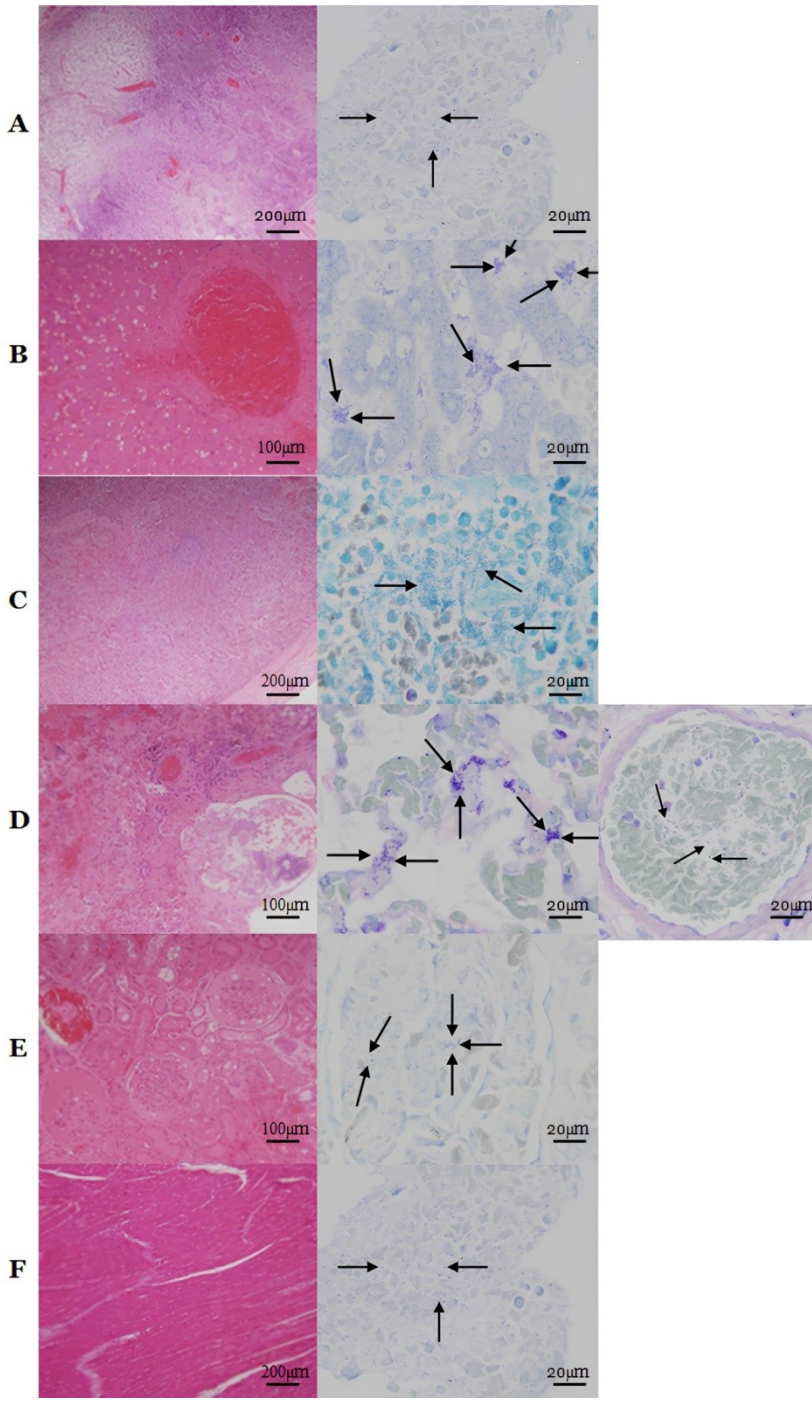


Рис. 12.1. *Трансаксиальный срез шейного отдела примата через уровень носоглотки. Наблюдаются воспаление лимфатического глоточного кольца и колонии бактерий*

лых самок карликовой зелёной мартышки (*Chlorocebus pygerythrus*), яванских макак (*Macaca fascicularis*) и макак-резусов[1] (*Macaca mulatta*), которых подвергают инъекционному (модель бубонной формы с последующим развитием вторичной септической и вторичной лёгочной форм) или аэрогенному (модель первичной лёгочная формы с последующим развитием вторичной септической формой) заражениям как основным путям заражения человека. При этом инфекционный процесс не сильно отличается от описанного ранее (Рис. 12.1 – Рис. 12.5), обнаруживая разве что воспаление в лимфатическом глоточном кольце (кольце Пирогова – Вальдейера; Рис. 12.1). Интересно, что даже в случае использования штамма, лишённого плазмиды pFra, то есть неспособного синтезировать капсулу (штамм *Y. pestis* Java 9), развивается тежёлая многодолевая пневмония с серозно-геморрагическим плевральным выпотом (т. е. скоплением жидкости в плевральной полости) и незначительным

[1] Название дано французским естествоиспытателем и живописцем-миниатюристом Жаном Батистом Одбером (1759–1800) в честь мифологического фракийского царя Реса (лат. Rhesus), защитника Трои согласно «Илиаде» Гомера (книга X).


A
200μm
20μm
B
100μm
20μm
C
200μm
20μm
D
100μm
20μm
20μm
E
100μm
20μm
F
200μm
20μm

◄ ***Рис. 12.2.*** *Ткани лимфатического узла (A), печени (B), селезёнки (C), лёгкого (D), почки (E) и сердца (D) макаки-резуса, подвергнутой инъекционному заражению штаммом Y. pestis 141; смерть наступила на 5 день, окраска гематоксилин-эозином (левый столбец) и по Гимзе (правый столбец), стрелками обозначены скопления бактерий (по Tian G., 2011):*
A – наблюдаются изменение архитектуры, резкое полнокровие и отёк, снижено количество лимфоцитов, медуллярные тяжи (т. е. мозгового вещества) повреждены и окружены большим количеством бактерий;
B – наблюдаются отёк гепатоцитов, дилатация и гиперемия центральной вены печёночных долек, незначительный застой в печёночном синусе, в котором обнаруживается несколько крупных скоплений бактерий;
C – наблюдаются снижение количества белой пульпы, отёк селезёночных тяжей красной пульпы и множество крупных скоплений бактерий, снижено количество лимфоцитов;
D – наблюдаются кровоизлияние, выпот и отёк, инфильтрация воспалительными клетками и некроз; скопления бактерий обнаруживаются в альвеолярной перегородке (первое изображение правого столбца) и внутри кровеносных сосудов (второе изображение правого столбца);
E – наблюдается выпот капсулы, интерстициальный отёк и набухание сосудов, небольшие скопления бактерий обнаруживаются внутри клубочка;
F – патологические изменения не наблюдаются, бактерии обнаруживаются в крови сердца

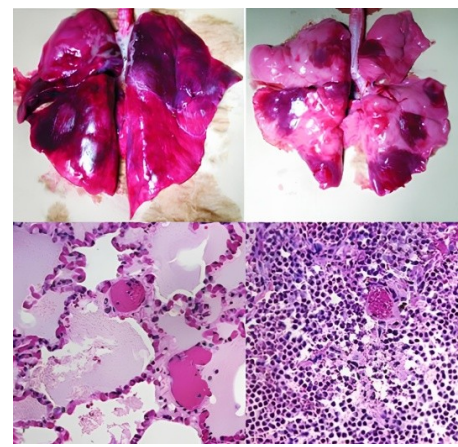


Рис. 12.3. *Лёгкие (верхний ряд) и ткань лёгких (нижний ряд; ув. 200х, окрашивание гематоксилин-эозином) яванских макак (Macaca fascicularis), подвергнутых аэрогенному заражению штаммом Y. pestis C092. Наблюдаются множественные участки сильного застоя и кровоизлияния. На срезах выявлена многоочаговая острая бронхопневмония, присутствуют нейтрофилы, макрофаги и моноциты, незначительный некротический дебрис и крупные скопления бактерий в интерстициальных пространствах внутри альвеол (по Cornelius C. A., 2008).*

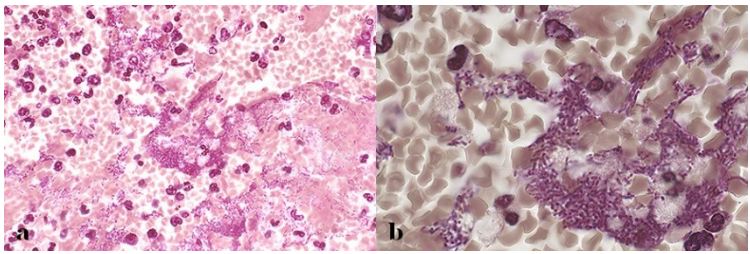


Рис. 12.4. *Ткань лёгкого взрослой самки карликовой зелёной мартышки, подвергнутой аэрогенному заражению штаммом Y. pestis Java 9; смерть наступила на 5 день (Дело WSC ID 2 (941200), AFIP 2506615, USAMRIID, 1995; публикуется с разрешения The Joint Pathology Center): a – ув. 40x, окраска гематоксилин-эозином; b – ув. 100x, окраска Brown – Hopps Gram (BH).*

фибринозным плевритом[1] (Рис. 12.4). Мультилобарная (т. е. двусторонняя) пневмония характеризуется наличием красных, тяжёлых, отёчных долей, которые не спадаются. В поражённых долях лёгких (Рис. 12.2-D и Рис. 12.3) имеются шаровидные или дискообразные некрогеморрагические очаги (обычно диаметром до 2 см). Присутствуют редкие лёгочные фибриновые микротромбы, которые являются характерным признаком синдрома диссеминированного внутрисосудистого свёртывания крови (ДВС-синдрома), возникшего в результате действия эндотоксина (ЛПС) бактерии[2].

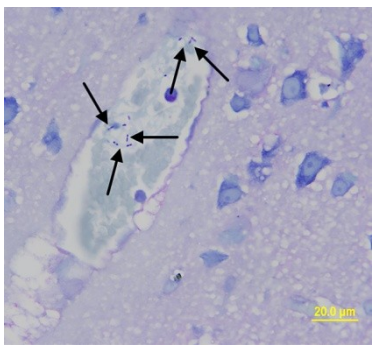


Рис. 12.5. *Ткань головного мозга макаки-резуса, подвергнутой инъекционному заражению штаммом Y. pestis 141; смерть наступила на 5 день, окраска по Гимзе. Стрелками обозначены небольшие скопления бактерии, обнаруживаемые в кровеносных сосудах головного мозга (по Tian G., 2011)*

[1] Это важно, поскольку, например, при оценке эффективности вакцин измеряют титр антител к капсульному антигену (капсуле), то есть не берут во внимание бесфракционные штаммы, которые, однако, способны вызывать первичную лёгочную чуму.

[2] Механизм развития ДВС-синдрома до конца не изучен, однако считается, что ЛПС активирует макрофаги, лимфоциты и систему комплемента, локализуется на/в эндотелиальных клетках (вызывая васкулит), а также активирует фактор свёртывания крови XII (фактор Хагемана), что приводит к тромбоэмболии и в конечном счёте развитию ДВС-синдрома.

13 СЕМЬСОТ ТРИДЦАТЬ ОДИН

…На свете есть две «расы» людей, только две! – люди порядочные и люди непорядочные. Обе эти «расы» распространены повсюду, и ни одна человеческая группа не состоит исключительно из порядочных или исключительно непорядочных… Так что же такое человек? Это существо, которое всегда решает, кто он. Это существо, которое изобрело газовые камеры. Но это и существо, которое шло в эти камеры, гордо выпрямившись, с молитвой на устах[1].

Виктор Франкл. Сказать жизни «Да»:
психолог в концлагере

Слабый ветерок гуляет по полигону у станции Аньда в Манчжурии. Множество людей, привязанных к столбам и страдающих от зноя, спокойно ждут своей участи. Они – лишённые имен «брёвна», как пренебрежительно именуют их. Ещё немного, и с неба пойдёт дождь из фарфоровых бомб, начинённых чумными блохами. Всё происходит под надзором и руководством военных Главного управления по водоснабжению и профилактике частей Квантунской армии, печально известного японского отряда 731, которым во время второй мировой войны командовал Исии́ Сиро́[2]. Недалеко от них стоит известный нам человек. Он бы и рад не быть здесь: созерцать игру солнца на камнях сада вместо того, чтобы смотреть его игру на каменных лицах жертв. Но историю не вычеркнешь и не

[1] Цит. по пер. Д. Орлова, Д. Леонтьева.

[2] 石井 四郎 (*Исии Сиро*), 1892–1959; японский врач, бактериолог, генерал-лейтенант, разработчик бактериологического оружия, военный преступник, руководитель отряда 731. После Второй мировой войны получил иммунитет от преследования в обмен на результаты исследований (почти все документы отряда были уничтожены во время отступления). Имеются сведения, что принимал консультативное участие в работе американской программы по разработке биологического оружия (также имеются сведения, что некоторые сотрудники отряда принимали участие в аналогичной программе СССР).

забудешь, как и те гнилые плоды, что способна извергнуть из себя нация, поражённая духом милитаризма и верой в своё превосходство. Их можно предать забвению, отрицать и оправдывать высокой целью, но история, этот неумолимый свидетель, всё сохраняет в своей памяти, потому что каждое событие отпечатывается во взгляде.

В первом отделе отряда группа Така́хаси занимается исследованиями чумы, тогда как группы Окамо́то и Исика́ва изучают патогенез. Во втором отделе группа Яко́нари занимается производством керамических бомб, а в четвёртом отделе группа Караса́ва наращивает бактериальную массу. За годы исследований только чумы (с 1938 по 1945 года) погибло около 3,5 тысяч человек (около трети всех погибших «брёвен»), было вызвано несколько вспышек заболевания на территории Китая. Заражение людей происходило как в полевых условиях, так и лабораторно. Подбирались дозы и условия. Иногда заражённых вскрывали заживо, чтобы лучше понять патологические изменения в органах, а художник тонкой бамбуковой кисточкой в мельчайших подробностях переносил увиденное на бумагу. Всё делалось для грядущего вторжения в сопредельные страны, которое оправдывалось единственным желанием – «улучшить» жизнь их жителей, «освободив» от западного влияния путём «вынужденной» аннексии. Война ради «мира»[1]. Но вместе с тем эти ужасные опыты пролили свет на патогенез чумы и других изучаемых инфекций. И хотя невозможно оправдать даже одну загубленную таким образом жизнь, будет лицемерием не признать, что мы используем полученные знания, что мы приняли их и на них базируем новые, пусть и гуманные, исследования. Поэтому нам следует помнить, что историю бактериологии пишут не только герои, жертвующие собственной жизнью ради других, но и преступники, которые приносят кровавые жертвы на алтарь войны[2].

---

[1] Следует помнить, что в предыдущие века японцы неоднократно подвергались расовой дискриминации со стороны стран Европы и США. В 1919 году японское правительство внесло на Парижской мирной конференции предложение о ликвидации расовой дискриминации, которое было поддержано большинством делегатов, но заблокировано президентом США Ву́дро Ви́льсоном (1856–1924) за нарушение правил голосования.

[2] Хотя страны-победители осудили японские опыты на Токийском (1946–1948) и Хабаровском (1949) процессах, достаточно быстро они (в частности, США и СССР)

Я знаю, что в мае-июле 1940 года в Центральном Китае, в районе Нимбо генерал ИСИИ, в то время полковник, руководил операцией боевого применения бактерий чумы против китайских войск.

Об этой операции я лично видел в отряде № 731 кинофильм заснятый непосредственно в районе боевых действий. На экране я увидел следующие кадры: к самолету прикрепляют специальные сосуды, причем в пояснении говорилось, что в этих сосудах помещены блохи, зараженные чумой, в самолет садятся люди, лиц их не видно, так как они обращены к самолету. Самолет отрывается от земли, а в отдалении стоят люди участники экспедиции и напутственно машут руками. Самолет снят в воздухе над расположением противника, на земле видно какое-то движение китайских войск и населенный пункт, сосуды под крыльями самолета открываются, из них вылетают блохи ввиде небольшого облачка. Самолет возвращается на аэродром. Надпись "операция закончена". Из самолета выходят полковник ИСИИ и майор ИКАРИ. Следует надпись: "Результат". На экране показана китайская газета и японский перевод ее. В китайской газете написано, что в районе Нимбо внезапно вспыхнула сильная эпидемия чумы. Предполагалось, что эта эпидемия возникла по вине японских войск, так как очевидцы видели японский самолет, летевший на небольшой высоте и выпускающий облачко, так как было доказано, что в данном случае источником заразы были не грызуны. Делался вывод, что эпидемию чумы вызвали японцы искусственно. Далее, на экране показан фотоснимок из китайской газеты: китайский противоэпидемический отряд в сопровождении полицейских дезинфецирует местность. Потом показан групповой фотоснимок китайского противоэпидемического отряда, участвовавшего в этой работе.

Фрагмент (стр. 7 и 8) Протокола допроса военнопленного подполковника медицинской службы японской армии Ниси Сюньэй (Тосихидэ) от 15–17 января 1947 года
Хранится в Государственном архиве Российской Федерации (Ф. Р-9492. Оп. 10с. Д. 147. Л. 405–417)

организовали собственные программы по созданию биологического оружия, которые существовали вплоть до XXI века, а, возможно, существуют до сих пор.

Блоха кусает несчастного, и его возвращают в тюрьму, но в ранку (входные ворота) уже попали чумные бактерии, знаменуя начало первого этапа инфекционного процесса. Этот этап достаточно слабо изучен, поскольку крайне сложно моделируется. Следует отметить, что блохи вносят бактерии в ткань кожи, а не подкожно, поскольку длина их ротового аппарата не позволяет проникнуть глубже дермы (Рис. 13.1). Слюна блохи содержит антикоагулянт апиразу, которая незначительно блокирует агрегацию тромбоцитов и нейтрофилов, что, однако, не вносит существенного вклада в развитие инфекционного процесса. На месте входных ворот впоследствии может образоваться очаг воспаления (*кожная форма*), сопровождающийся зоной покраснения (редко – петехиальной сыпью) и затем так называемым *первичным аффектом* (язвой, фликтеной, карбункулом). Только в 5 % случаев очаг воспаления достаточен для визуального обнаружения.

На данном этапе перед каждой бактерией стоят две, казалось бы, противоположные задачи: с одной стороны, необходимо обеспечить уклонение от действия факторов врождённого иммунитета (выживание), а с другой – проникнуть в макрофаги, важный клеточный фактор врождённого иммунитета, для размножения (*внутриклеточная фаза инфекционного процесса*).

Катионные антимикробные пептиды, вероятно, первое препятствие, которое встречает чумной микроб на своём пути. За уменьшение связывания бактерии с положительно заряженными пептидами отвечает ЛПС (вернее, наличие N-ацетилглюкозамина в ко́ровой части) и модификации фосфатных групп 4-аминоарабинозой, за осуществление которой отвечает белок глюкозо-1-фосфатуридилилтрансфераза (GalU). Далее резко снижается содержание железа в тканях, что должно препятствовать размножению бактерий. Однако синтезируемый *Y. pestis* сидерофор йерсиниабактин(хромосома) [1] связывает имеющееся железо (комплекс Ybt-Fe^{3+}) и доставляет в бактерию, обеспечивая её им в достаточных количествах[2]. Кроме того, бактерия захватывает цинк (с помощью

[1] Здесь и далее в Главах 13–15 в фигурных скобках будут указаны генетические структуры, на которых присутствуют гены, кодирующие синтез указанного фактора.

[2] Использование сидерофоров не является «изобретением» *Y. pestis*. Многие энтеробактерии используют их для связывания железа, однако они легко инактивиру-

йерсиниабактина{хромосома}) и медь (вероятно, с помощью йерсинопина{хромосома}).

Далее бактерия подвергается действию лизоцима, синтезируя в ответ на него **ингибитор лизоцима позвоночных**{хромосома} (ivy, от англ. **i**nhibitor of **v**ertebrate **l**ysozymes), который, связываясь с лизоцимом, ингибирует его[1]. Он же вносит вклад в выживание при контакте с полиморфоядерными лейкоцитами, в первую очередь нейтрофилами.

Активатор плазминогена{pPla} (скорее всего, совместно с белком Ail{хромосома}) обеспечивает резистентность к системе комплемента, который является следующим фактором врождённого иммунитета: активатор плазминогена{pPla} разрушат C3-компонент, а Ail{хромосома} связывает фактор H и белок, связывающий компонент C4. Связываясь с ЛПС (пока ещё 6-ацильным), активатор плазминогена{pPla} расщепляет и инактивирует ингибитор пути тканевого фактора (TFPI, от англ. **t**issue **f**actor **p**athway **i**nhibitor), являющийся основным ингибитором коагуляции (плазмокоагулазная активность[2]), обеспечивая свёртывание крови в месте входных ворот (своеобразное запечатывание инфекции). Однако с продвижением бактерий вглубь дермы 6-ацильный ЛПС начинает трансформироваться в 4-ацильный, что приводит к смене плазмокоагулазной активности активатора плазминогена{pPla} на фибринолитическую. Плазминоген трансформируется в активную форму (плазмин), которая вызывает разрушение усиливающих иммунную защиту сгустков фибрина, позволяя в месте укуса сформировать обширный бактериальный очаг с небольшим количеством воспалительных клеток, способствуя размножению, которое достаточно быстро привлечёт к себе дендритные клетки, нейтрофилы и резидентные тканевые

ются липокалином-2, поэтому «фокус» чумного микроба состоит в том, что они синтезируют йерсиниабактин, который, в отличие от других сидерофоров, не инактивируется липокаином-2.

[1] Интересно, что *Y. pseudotuberculosis* для ингибирования лизоцима использует ЛПС, а не ivy. Ранее считалось, что поскольку *Y. pestis* потеряла ряд генов во время эволюционного отделения от *Y. pseudotuberculosis*, гены вирулентности, сохранённые *Y. pestis*, также необходимы и *Y. pseudotuberculosis*, как её предку, однако факт использования ЛПС для ингибирования лизоцима делает эту теорию сомнительной.

[2] Вспомним: ранее считалось, что плазмокоагулазная активность обеспечивает блокообразование у блох.

макрофаги (Рис. 13.2 и Рис. 13.3). Бактерия распознаётся Toll-подобным рецептором TLR-9, расположенным на дендритных клетках, что приводит к усилению ими синтеза интерферонов. Вместе с тем поглощение дендритными клетками, характерное для большинства бактерий, практически не происходит. Чумной микроб словно избегает их. Причины этого явления до конца ещё не изучены, однако имеются сведения, что белок YopJ{плазмида pCad} обеспечивает инактивацию дендритных клеток. С другой стороны, дендритные клетки могут захватывать *Y. pestis* с помощью маннозного рецептора CD209 (DC-SIGN, от англ. **D**endritic **C**ell-**S**pecific **I**ntercellular adhesion molecule-3-**G**rabbing **N**on-integrin), присутствующего на поверхности дендритных клеток и способного связываться с 6-ацильным ЛПС (который всё ещё присутствует[1]) для последующего уноса в лимфатические узлы. Внутри дендритной клетки происходит гибель бактерий с последующим расщеплением с целью осуществления загрузки главного комплекса гистосовместимости (MHC, от англ. **m**ajor **h**istocompatibility **c**omplex) II класса. После загрузки MHC с пептидом (в данном случае – кусочком расщеплённой бактерии (бактериальным фрагментом), таким своеобразным трофеем[2]) направляется к поверхности клетки, где взаимодействует с Т-клеточными рецепторами, расположенными на поверхности CD4-положительных лимфоцитов (т. е. Т-хелперов)[3], что в конечном счёте приводит к выделению цитокинов[4] и активации В-лимфоцитов (синтез антител), цитотоксических Т-лимфоцитов (Т-киллеров) и NK-клеток[5]. В этот момент «в игру» вступает приобретённый иммунитет.

---

[1] В Главе 6 мы говорили, что при температуре 37°C синтезируется незначительная часть 6-ацильных ЛПС.

[2] Т. е. антигеном (от англ. **anti**body **gen**erator – производитель антител).

[3] Поскольку данный процесс осуществляется в лимфатических узлах, можно предположить, что связывание активатора плазминогена{pPla} с CD205 является стратегией бактерии для доставки в лимфатический узел.

[4] Интересно, что в случае некоторых животных, например, собак, бактерии практически не могут сопротивляться этому процессу, поэтому заболевание протекает легче.

[5] Необходимо оговориться, что цитотоксических Т-лимфоцитов активируется мало (примерно 10%) ввиду презентации антигена MHC II класса (сведения о возможности презентации антигена MHC I класса, который активирует большую часть цитотоксических Т-лимфоцитов, отсутствуют), а NK-клетки обнаруживаются только в лимфатическом узле и то в небольшом количестве.

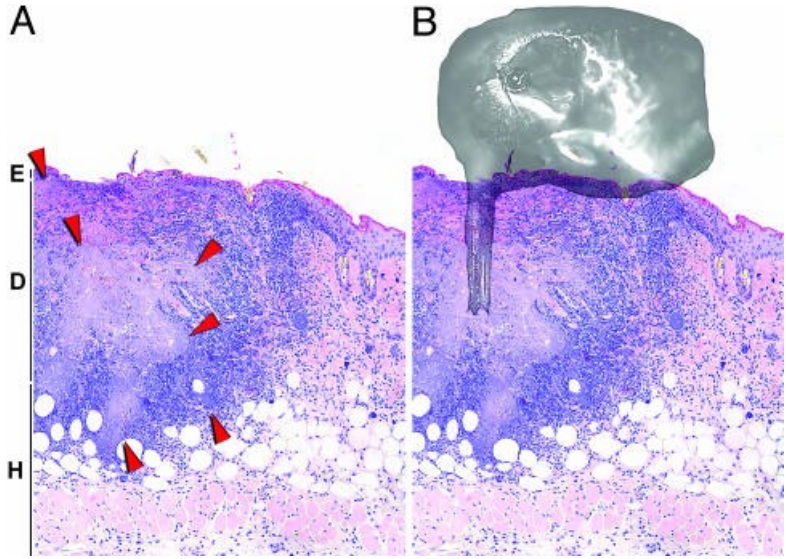


Рис. 13.1. *Срез кожи через 3 дня после укуса инфицированной блохой (мышиная модель, штамм Y. pestis 195/P), окраска гематоксилин-эозином. Наблюдается (A, ув. 100х) большая бактериальная масса в виде светло-фиолетовой области (окружена красными стрелками), простирающейся от середины дермы (D) до эпидермиса (E) и гиподермы (H), что соответствует (B, ув. 100х) расположению ротового аппарата блохи (по Sebbane F., 2006; Copyright (2006) The National Academy of Science, U.S.A., публикуется с разрешения правообладателя)*

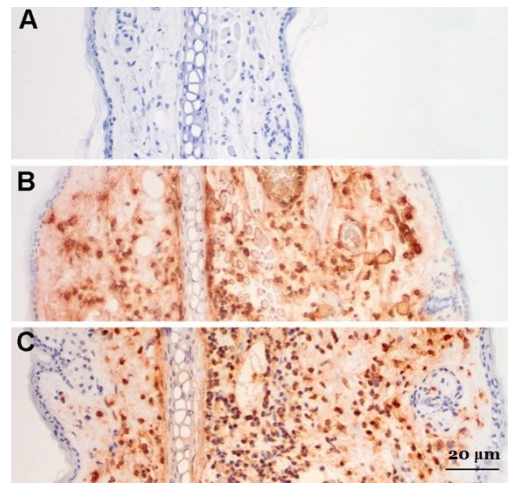


Рис. 13.2. *Воспалительная реакция в месте подкожного введения через 48 часов (мышиная модель), окраска гематоксилин-эозином, иммуногистохимическое окрашивание. Наблюдаются полиморфноядерные лейкоциты (в основном нейтрофилы) коричнево-оранжевого цвета (по Guinet F., 2008):*
A – контроль (физраствор); B – штамм Y. pestis CO92;
C – штамм Y. pseudotuberculosis IP32953 (сравнение)

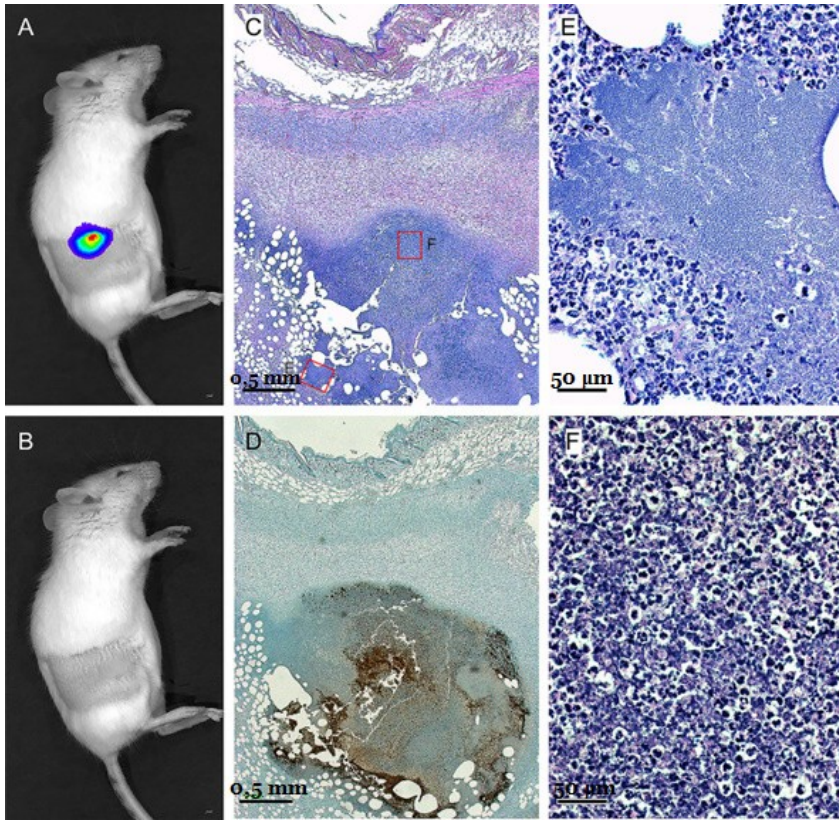


Рис. 13.3. *Воспалительная реакция в месте укуса блохой (мышиная модель, биолюминесцентный штамм Y. pestis pGEN-luxCDABE). Мышь сфотографирована (B) с биолюминесценцией (A), отмечающей место укуса (красный цвет) и воспаления. Срезы кожи, взятые из этого места (C, окраска гематоксин-эозином; D, иммуногистохимическое окрашивание), обнаруживают язвенный и некротизирующий дерматит, а также большое скопление бактерий (D, коричневый цвет). На областях, выделенных красными прямоугольниками (на C), при увеличении обнаруживаются (E) большие скопления бактерий, окружённые нейтрофилами, а также (F) область жизнеспособных и дегенеративных нейтрофилов и макрофагов (некроз), смешанных с бактериями (по Bosio C. F., 2020)*

Захваченные нейтрофилами бактерии (Рис. 13.4) будут подвергнуты фагоцитозу[1], который смогут пережить только 10–15%[2]. Главную роль в этом сыграют наличие капсулы{pFra}, уже упомянутые ранее модификации ЛПС, способствующие снижению действия катионных антимикробных пептидов, а также Yop-белки{плазмида pCad} (YopE, YopH, YopJ и YpkA), которые, действуя совместно, заблокируют высвобождение первичных гранул (содержащих бактерицидные ферменты) и нарушат цитоскелет нейтрофила. Кроме того, синтезируемые ещё в блохе белки YitA{хромосома} и YipA{хромосома}[3], локализованные на внешней мембране, повышают устойчивость бактерий к фагоцитозу. Вместе с тем в настоящее время неясно, насколько выживание микроба в нейтрофилах важно для патогенеза, поскольку практически все высвободившиеся бактерии останутся в месте первичного аффекта.

Несколько позже нейтрофилов прибывают макрофаги, которые являются для *Y. pestis* так называемой *репликативной нишей*, поэтому они стремятся прикрепиться к ним, при этом некоторые макрофаги унесут их в регионарные лимфатические узлы (часть бактерий по лимфатическим сосудам достигнет их самостоятельно). Прикреплению к макрофагу способствует Ail{хромосома} и активатор плазминогена{pPla}. Первый, вероятно, осуществляет прикрепление бактерии к β-интегринам мембраны макрофага. Последний же осуществляет модификацию белка YapE, благодаря которой он

---

[1] Тут важно уточнить, что часть инфицированных нейтрофилов будет поглощаться макрофагами в процессе эффероцитоза («зачистки»), что приведёт к секреции цитокина 1L-1RA, который блокирует воспаление и повышает эффективность систему секреции III типа (синтез Yop-белков).

[2] Имеются сведения, что некоторая часть захваченных бактерий даже способна размножаться в нейтрофилах!

[3] Оба белка относятся к семейству белков инсектицидоподобного токсинного комплекса (Tc, от англ. [insecticidal-like] **t**oxin **c**omplex) и, будучи синтезированными при низкой температуре (в блохе), сохраняются при температуре 37 °C в течение нескольких часов. Следовательно, если источником инфекции является теплокровный носитель, выживаемость в нейтрофилах значительно снижается. Роль других белков – членов этого семейства до конца не изучена, хотя известно, что они проявляют активность против мышиных фибробластов, но не против эпителиальных клеток кишечника человека, что указывает на избирательность в отношении хозяина. Кроме того, имеются сообщения, что эти белки активируются в макрофагах и используют молекулярную иглу (систему секреции III типа) для проникновения в цитоплазму макрофага.

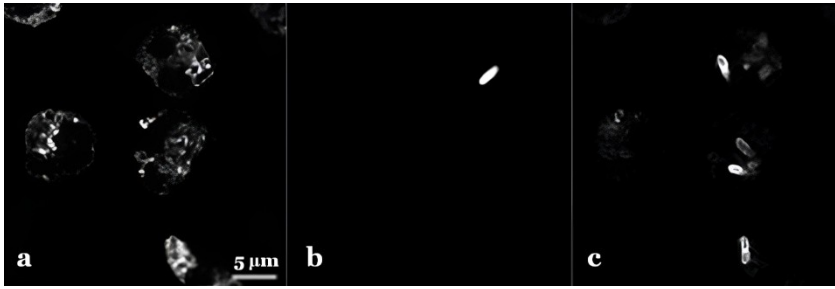


Рис. 13.4. *Конфокальная микроскопия фагосом нейтрофилов, содержащих живые и мёртвые клетки штамма Y. pestis KIM6+, иммуногистохимическое окрашивание (по Dudte S. C.; 2017):*
a – фагосомы нейтрофилов; b – живые бактерии; c – мёртвые бактерии

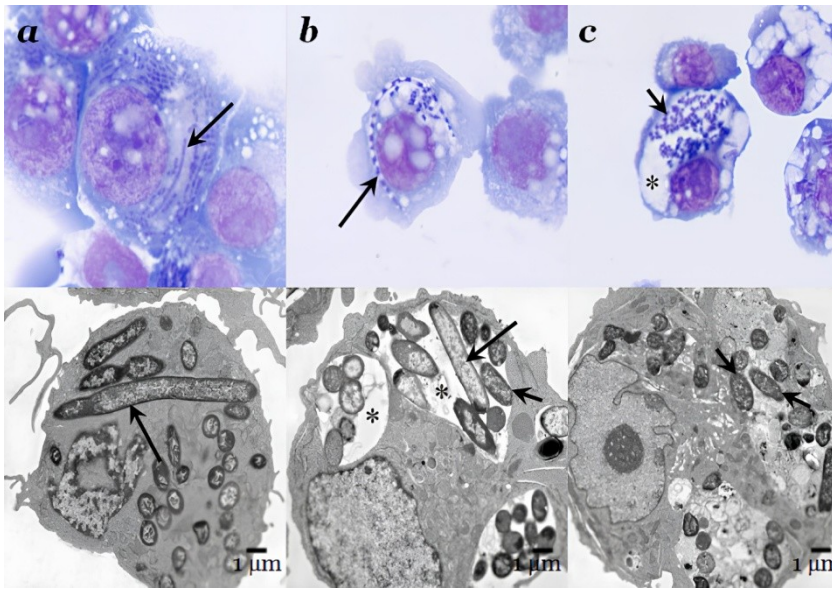


Рис. 13.5. *Световая микроскопия (верхний ряд, окраска по Райту – Гимзе, ув. 1000х) и просвечивающая электронная микроскопия (нижний ряд, фиксация глутаровым альдегидом, ув. 6000х) макрофагов RAW 264.7 через 2,5 (a), 7,5 (b) и 27,5 (c) часов после захвата бактерий Y. pestis KIM6+. Длинные и короткие стрелки отмечают нитевидные бактерии и коккобациллы соответственно, а звёздочкой отмечено обширное вакуолярное расширение фаголизосом (по Ponnusamy D., 2012)*

приобретает адгезивные свойства[1], а также связывается с маннозным рецептором CD205 (DEC205; LY75; lympacite antigen 75) на поверхности макрофага, который и отвечает за поглощение бактерий макрофагом. Кроме того, как и дендритные клетки, макрофаги имеют на поверхности маннозный рецептор CD209, благодаря которому могут также захватывать *Y. pestis*, связываясь с 6-ацильным *Л*ПС (конечно, у тех бактерий, которые его ещё имеют).

Затем бактерии поглощаются макрофагом в фагосому (Рис. 13.5), образованную путём замыкания мембраны клетки вокруг бактерий, которая затем сливается с лизосомой (т. е. небольшой органеллой, обеспечивающей деградацию клеточных элементов), образуя таким образом фаголизосому. Сложно сказать, что станет с непоглощёнными бактериями (мигрируют ли они в лимфатический узел или останутся в коже), но перед оказавшимися в макрофаге теперь стоит важная задача – выжить, поскольку именно в фаголизосоме обеспечены оптимальные условия для бактериолиза (т. е. разрушения оболочки бактерии) и последующего расщепления с целью осуществления загрузки MHC II класса и, соответственно, осуществления презентации (т. е. представления) Т-хелперу и выделения цитокинов по сценарию, описанному выше. Ввиду того, что антитела чаще всего вырабатываются к капсульному антигену{pFra}, который синтезируется именно в макрофаге, следует предположить, что презентация бактериальных фрагментов MHC II класса макрофагами эффективнее, чем презентация дендритными клетками.

Попадание в фаголизосому макрофага знаменует начало второго этапа инфекционного процесса (2–3 день после попадания бактерий в организм)[2], во время которого бактерия подвергается действию реактивных соединений азота и кислорода. Защиту от первого обеспечивают белок RipA{хромосома} и бутирил-КоА-трансфераза, а

[1] Этот процесс называется посттрансляционный процессинг белка, то есть химическая его модификация (изменение) после синтеза на рибосоме, что, как правило, является последним этапом биосинтеза белка.

[2] Синтез всех факторов, обеспечивающих выживание на данном этапе, осуществляется в течение первых четырёх часов нахождения в макрофаге.

от второго – Ybt{хромосома}[1]. Отличительной особенностью фаголизосомы является кислотность среды (т. е. значение pH < 6), при которой бактерия начинает синтез pH6-антигена{хромосома}, то есть фимбрий, необходимых для прикрепления к стенке фаголизосомы. Другой особенностью фаголизосом является низкое содержание ионов кальция, при котором бактерия начинает синтез LcrV{pCad}, стимулирующего секрецию Yop-белков{pCad}, то есть активацию системы секреции III типа (T3SS; Type III secretion system). LcrV{pCad} организует и нацеливает молекулярную иглу (YopB{pCad} и YopD{pCad}), обеспечивая проникновение Yop-белков{pCad} в цитоплазму, где они нарушают действие сигнальных систем (YopE, YopH, YopJ, YopM, YopT, YpkA), разрушают цитоскелет (YopE, YopH, YopT, YpkA) и цитокин-индуцирующую активность (YM, YopJ) макрофага. Белок YopH{pCad} обеспечивает митофагию, то есть повреждает митохондрии, не давая им секретировать митохондриальные активные формы кислорода (mROS, от англ. **m**itochondrial **r**eactive **o**xygen **s**pecies). Белок YopJ{pCad} индуцирует апоптоз. Следует отметить, что при длительном синтезе (более 36 часов) внутри макрофага капсульный антиген{pFra} также способен оказывать цитопатическое действие путём образования пор в их наружной мембране.

В этот момент бактерии переходят от внутриклеточной фазы к *внеклеточной фазе инфекционного процесса*. Размножившиеся в макрофагах, они хорошо подготовлены для противостояния действию иммунитета. Совместно с апо-B-липопротеином, которым pH6-антиген{хромосома} покрывает поверхность бактерии, капсульный антиген{pFra} (напомним: его синтез начинается ещё в макрофаге) экранирует действие активатора плазминогена{pPla} и Ail{хромосома} (напомним: которые ранее участвовали в прикреплении к макрофагам). Конечно, как мы говорили ранее, капсульный антиген{pFra} может не синтезироваться, что повлияет только на скорость инфекционного процесса (замедлит его). Также pH6-антиген{хромосома} препятствует новому поглощению бактерии макрофагом (см. Глава 6, Рис. 6.1).

[1] Кроме того йерсиниабактин обеспечивает связывание ионов меди, проявляя активность супероксиддисмутазы, трансформирующей реактивные соединения кислорода в менее токсичные.

Присутствие бактерий в лимфатических узлах (Рис. 13.6) стимулирует синтез провоспалительных цитокинов (часть бактерий, как мы уже говорили, фагоцитируется антигенпредставляющими клетками[1]) и фибрина. Ведущая роль в этом принадлежит всё ещё присутствующему 6-ацильному ЛПС. Дело в том, что 6-ацильный ЛПС распознаётся рецептором TLR-4, активация которого индуцирует синтез провоспалительных цитокинов TNFα, IL-1, IL-6 и IL-8. Как следствие, развивается острая воспалительная реакция, которая сопровождается лимфоденитом, характеризующимся тромбозом сосудов и некротическими изменениями тканей узла с вовлечением подкожной клетчатки, что приводит к их слиянию в единый конгломерат, то есть образованию бубона (*бубонная форма*). В большинстве случаев появление бубона совпадает с повышением температуры.

Несмотря на воспалительный процесс, в образовавшихся бубонах присутствует мало нейтрофилов, миграцию которых тормозят белок YopJ{pCad}, подавляющий синтез IL-8 (который в свою очередь и способствует привлечению и активации нейтрофилов), а также LcrV{pCad} и Ail{хромосома} (механизмы не изучены). NK-клетки, которых немного содержится в лимфатических узлах, способны уничтожать бактерии (при этом им не нужны антигенные детерминанты), однако они гибнут под действием белка YopM{pCad}, что приводит к снижению продукции INFγ (который активирует макрофаги).

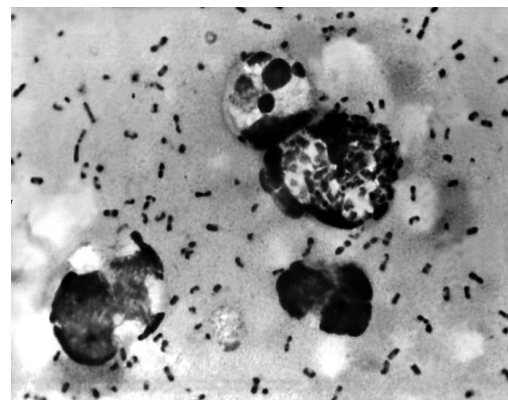


Рис. 13.6. *Мазок лимфы из бубона с клеточным дебрисом и множественными бактериями (изображение из коллекции Dr. Karl Friedrich Meyer, 1965). Именно такие клетки видел Александр Йерсен, сравните их с Рис. 3.1*

[1] Так называют клетки, презентирующие антиген Т-хелперу (в данном случае – дендритные клетки и макрофаги).

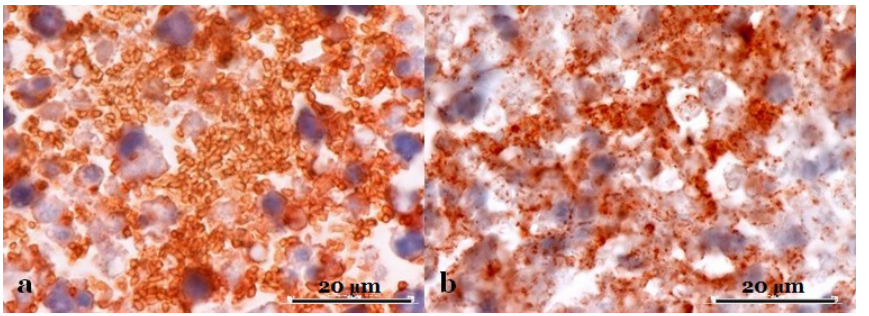


Рис. 13.7. *Ткань лимфатического узла через 48 часов (мышиная модель) после внутрикожного введения штаммов Y. pestis strain 6/9, bv. orientalis: Pla+ (a) и Pla- (b), иммуногистохимическое окрашивание. По оранжево-коричневому цвету окрашивания можно видеть неповреждённые клетки штамма дикого типа против точечного окрашивания погибших клеток (вероятно, фрагментов клеток) Pla--штамма (по Guinet F., 2015).*

Не менее важную роль играет активатор плазминогена{pPla}, который, проявляя протеолитическую активность, обеспечивает бактерию питанием (создаёт оптимальную для роста среду), либо защищает бактерии от бактерицидного действия иммунной системы. Так или иначе, опытным путём (с участием Pla-негативных штаммов) было показано[1], что активатор плазминогена{pPla} обеспечивает хорошую выживаемость бактерий в лимфатическом узле и, следовательно, его высокую бактериальную нагрузку (Рис. 13.7).

Прорыв бубона и проникновение бактерий в кровь[2] (Рис. 13.8) знаменует начало третьего этапа инфекционного процесса и, как можно догадаться, сопровождается бактериемией[3]. Большую роль на этом этапе играет 4-ацильный ЛПС, который обладает низкой

[1] Guinet F., Avé P., et al. *Dissociation of Tissue Destruction and Bacterial Expansion during Bubonic Plague.* PLoS Pathog. 2015; 11(10):e1005222; DOI: 10.1371/journal.ppat.1005222.

[2] Следует заметить, что не всегда появление некоторого количества возбудителя в крови говорит о прорыве лимфатического узла.

[3] Одновременно с этим бактерия может по лимфатическим сосудам током лимфы переноситься в другие лимфатические узлы, вызывая в них воспаление, переходящее в бубон (аналогично описанному ранее второму этапу инфекционного процесса). Такие бубоны принято называть бубонами второго порядка, однако их образование случается редко (бубон второго порядка мы могли видеть на Рис. 17.2-(D)/рамка).

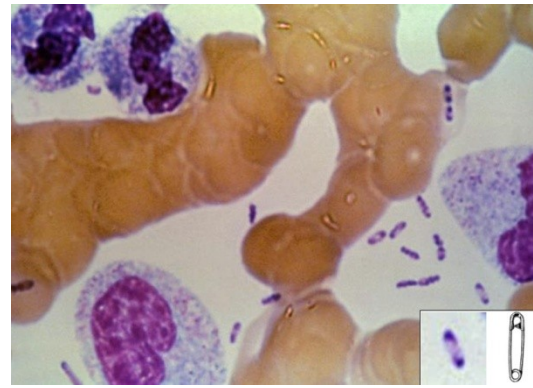


Рис. 13.8. *Микрофотография мазка крови, содержащей Y. pestis, окраска по Райту. Можно видеть биполярно окрашенные концы по типу английской булавки (в правом нижнем углу для наглядности приведено сравнение окрашенной бактерии с булавкой). Именно такие клетки видел Китасато Сибасабуро, сравните их с Рис. 3.1*

способностью связываться с рецепторным комплексом TLR4/MD2 (данный комплекс, связываясь с *Л*ПС, активирует иммунный ответ). Капсульный антиген{pFra} (капсула) истощает систему комплемента путём избирательной активации C2 и C4 компонентов (напомним: ранее эту функцию выполняли активатор плазминогена{pPla} и Ail{хромосома}, но они экранированы капсульным антигеном{pFra} для предотвращения связывания с фагоцитами) и уклоняется от захвата фагоцитами (буквально «ускользает» от них).

Достаточно быстро попавшие в кровь бактерии фильтруются селезёнкой и печенью. В этих органах не наблюдается воспалительной реакции: во-первых, благодаря действию 4-ацильного *Л*ПС, а во-вторых – действию белка YopM{pCad}, который подавляет миграцию дендритных клеток в селезёнку и, активируя цистеиновую протеазу каспаза-3 (CASP 3; caspase 3), вызывает апоптоз нейтрофилов и макрофагов в печени. Помимо этого, инактивируя совместно с белком YopJ{pCad} каспазу-1, препятствует синтезу IL-1β и IL-18[1].

Отсутствие воспалительной реакции приводит к бесконтрольному размножению бактерий и, как следствие, разрушению печени и селезёнки с попаданием большого количества бактерий в кровь, что знаменует начало четвёртого (терминального) этапа инфекционного процесса, сопровождаемого массивной септицемией (*вто-*

[1] Инактивация каспазы-1 препятствует созреванию инфламмосомы, которая отвечает за активацию воспалительного ответа и, в частности, секрецию IL-1β и IL-18.

ричная септическая форма)[1]. На этом этапе, с одной стороны, происходит гематогенная диссеминация (попадание возбудителя в различные органы), а с другой – генерализованная воспалительная реакция, сопровождаемая высокими концентрациями провоспалительных цитокинов. Возможно образование вторичных бубонов.

Ранее мы говорили, что 4-ацильный *Л*ПС обладает низкой цитокин-индуцирующей активностью, однако под воздействием гликолипидов, имеющихся в печени, селезёнке и эритроцитах (напомним: pH6-антиген{хромосома} связывает липиды, а также разрушает эритроциты), происходят конформационные изменения (т. е. изменения пространственной структуры молекулы) *Л*ПС, который, с одной стороны, совместно с липопротеином Брауна (Lpp)[2] индуцирует продукцию TNFα, IFNγ, IL-1β, IL-6, развитие септического шока, а с другой – активирует фактор свёртывания крови XII, что приводит к тромбоэмболии и *Д*ВС-синдрому. Благодаря совместному действию pH6-антигена{хромосома} и йерсиниабактина{хромосома} (разрушение эритроцитов и захват железа), развивается анемия. Георгий Павлович Ру́днев[3] сообщает[4] об уменьшении количества эритроцитов до 3–3,5 х 10^{12}/*л* (норма у мужчин – 4,0–5,1 х 10^{12}/*л*, у женщин 3,7–4,7 х 10^{12}/*л*) и снижении содержания гемоглобина до 50–60 %. При тяжёлых формах он отмечает редкое появление нормобластов (т. е. клеток – предшественников эритроцитов), полихромазию[5] и анизоцитоз (т. е. изменение формы, размера и окра-

[1] К настоящему времени четкой границы между третьим (бактериемией) и четвёртым (септицемией) этапами инфекционного процесса не существует, поэтому их разделение дано исключительно в методических целях.

[2] Белок внешней мембраны бактерии распознаётся TLR-2.

[3] 1899–1970; советский (украинский) врач, инфекционист, член Академии медицинских наук СССР. Автор классификаций клинических форм чумы, туляремии и бруцеллёза.

[4] Руднев Г. П. *Клиника чумы, под ред. д-ра Ф. Р. Чушинского,* Ростовский государственный противочумный институт и кафедра инфекционных болезней Ростовского медицинского института, Ростов-на-Дону: Ростиздат, Тип. им. Коминтерна, 1938, 268 с.

[5] Способность клеток (в данном случае эритроцитов) при окраске по Романовскому – Гимзе окрашиваться одновременно кислотными и основными красителями в дымчатый серо-фиолетовый цвет, что свидетельствует о недостаточной зрелости эритроцитов. Впервые данное явление обнаружил германский и прусский врач Па́уль Эрлих (1854–1915).

ски эритроцитов). Количество лейкоцитов при этом увеличивается до 20–30 х 10^9/л (норма 4–9 х 10^9/л).

Происходят повсеместные изменения в мелких сосудах и капиллярах. Характерным показателем является снижение резистентности капилляров кожи, возможно появление сыпи. Нарушение кровотока в микроциркуляторном русле конечностей приводит к развитию акрального некроза. Из крупных и средних сосудов поражаются преимущественно вены. При этом кровоизлияния в стенках вен нередко сочетаются с их расслоением и некрозом, захватывающим среднюю и наружную оболочки сосуда и иногда периваскулярную соединительную ткань. Иван Иванович Широкого́ров[1] сообщает об изменениях в аорте, выраженных кровоизлияниями в окружающую клетчатку и воспалительной клеточной инфильтрацией вокруг питающих аорту сосудов (т. е. vasa vasorum).

В результате гематогенной диссеминации бактерии попадают в различные органы и, в первую очередь, в лёгкие, что знаменует начало *вторичной лёгочной формы* (вторичной лёгочной чумы), которая развивается примерно у 10 % больных (обычно в результате несвоевременного лечения). Эта форма особенно опасна тем, что при ней возможна реализация воздушно-капельного механизма передачи возбудителя, причём от человека к человеку. Однако необходимо заметить, что заражение происходит только во время кашля (чумной аэрозоль распространяется на несколько метров!) и выхода мокроты, в которой возбудитель может сохраняться несколько дней, правда, при отсутствии света и нагревания (да и кто додумается мокроту нагревать?). Дыхание больного при этом безопасно. Кроме того, для лёгочной формы характерно эмпирическое правило 80:20, согласно которому *только 20 % популяции хозяев вносят не менее 80 % потенциала передачи, измеряемого базовым числом воспроизводства* R_0, т. е. только 20 % больных несут ответственность за 80 % случаев передачи инфекции[2].

---

[1] 1869–1946; российский врач, патологоанатом, член Академии медицинских наук СССР (1944), член Академии наук Азербайджанской ССР (1945). Автор множества работ по патологической анатомии чумы.

[2] Woolhouse M.E., Dye C., et al. *Heterogeneities in the transmission of infectious agents: implications for the design of control programs.* PNAS. 1997; 94(1):338–342; DOI: 10.1073/pnas.94.1.338.

Инфекционный процесс в лёгких протекает в две фазы. На *предвоспалительной фазе* pH6-антиген{хромосома} обеспечивает связывание бактерий с клетками альвеолярного эпителия для размножения (напомним: за счёт соединения с фосфатидилхолином, расположенным на поверхности мембраны эпителиальной клетки). Благодаря 4-ацильному ЛПС и Yop-белкам{pCad} бактерии ингибируют фагоцитоз, осуществляемый альвеолярными макрофагами и нейтрофилами (приток в лёгкие последних снижен ввиду связывания цинка йерсиниабактином{хромосома}[1], что также способствует размножению бактерий), а продукты их распада (содержимое гранул и активные формы азота) несут ответственность за повреждения ткани лёгких. При этом, по-видимому, единственным ответом на инфекцию является IL-1β, который, однако, блокируется антагонистом 1L-1RA (как мы помним, он секретируется в процессе эфероцитоза («зачистки») макрофагами инфицированных нейтрофилов, присутствующих в незначительном количестве).

Провоспалительная фаза начинается только через 36–48 часов и сопровождается активацией провоспалительных цитокинов IL-6, IL-17, TNFα I, IFNγ, а также хемокинов CXCL1 и CCL2, что способствует массивному притоку нейтрофилов в альвеолярные пространства (и некоторые снова будут подвергнуты эфероцитозу), из-за чего образуются плотно упакованные очаги воспаления, которые увеличиваются ввиду постоянного притока нейтрофилов. Как следствие, происходит значительное разрушение альвеол, сопровождающееся отёком, кровоизлияниями и, наконец, некрозом (Рис. 13.9). На фоне массивной пневмонии, сопровождающейся плевральным выпотом, возможно поражение трахеобронхиальных лимфатических узлов (трахеобронхиальный лимфаденит).

В 6% случаев возможен гематогенный занос в оболочки головного и спинного мозга с развитием *менингеальной формы* (чумной менингит), которая, вероятно, реализуется по лимфатическим сосудам вследствие достаточного синтеза капсулы (капсульного антигена{pFra}) на фоне недостаточного иммунного ответа на четвёртом этапе инфекционного процесса (септической формы). Чаще всего

[1] *Pgm*-негативные штаммы, не способные синтезировать йерсиниабактин, даже при значительной колонизации не способны вызывать пневмонию. Однако это не влияет на летальность.

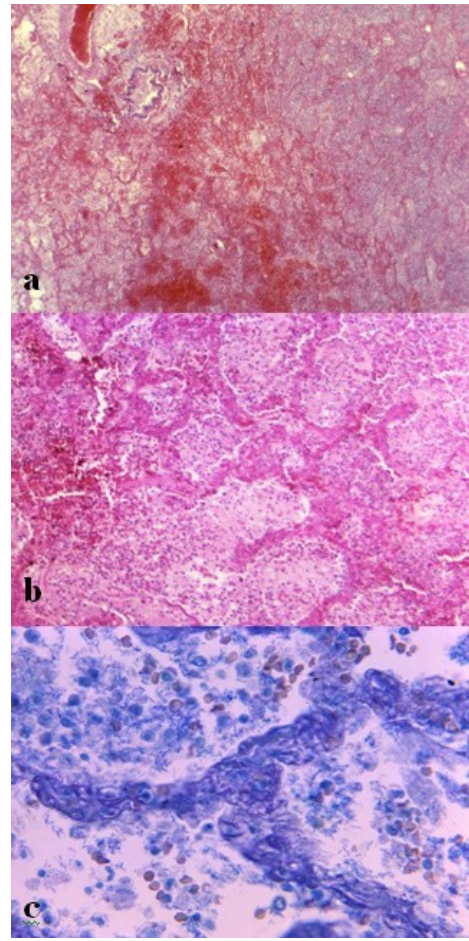


Рис. 13.9. *Ткань лёгкого, взятая у пациента с вторичной лёгочной формой чумы:*
a – солитарный лёгочный узел[1], ув. 30х, окраска гематоксилин-эозином; наблюдается ярко-красная зона периферического кровоизлияния с зоной консолидации (т. е. уплотнения за счёт заполнения альвеол кровью, экссудатом и т. д.) справа;
b – фрагмент зоны консолидации солитарного лёгочного узла, ув. 125х, окраска гематоксилин-эозином; наблюдаются альвеолы, заполненные серозным экссудатом, гранулоцитами и некротическими альвеолярными эпителиальными клетками;
c – ткань лёгкого, ув. 500х, окраска по Гимзе; наблюдаются многочисленные бактерии

менингит развивается после бубонной формы, как правило, на фоне недостаточной (неадекватной) антибиотикотерапии (9–15 день). Сопровождается лихорадкой, ригидностью затылочных мышц и головной болью. У некоторых пациентов имеются такие очаговые неврологические нарушения, как аномалии черепных нервов.

[1] Одиночное периферическое образование в лёгочной ткани размером не менее 3 см, выявленное при помощи рентгенографии, компьютерной томографии или позитронно-эмиссионной томографии грудной клетки. Может быть случайной находкой.



Рис. 13.10. *Двусторонний дакриоцистит и воспалённый левый подмышечный лимфатический узел у мальчика*

Поражения органов зрения встречаются примерно у 4,3% инфицированных. При этом летальность, по данным Константина Александровича Юдина[1], составляет 53,8 %. В результате гематогенного заноса возбудителя возникают такие вторичные патологии глаз, как конъюнктивиты, конъюнктивальные кровоизлияния, пустулы, кератиты, язвы роговицы, кератоириты (т. е. воспаление роговицы и радужки), кератоиридоциклиты (т. е. воспаление роговицы и радужки с вовлечением тройничного нерва) и панофтальмиты[2]. В результате кровоизлияния в конъюнктиву возможно появление энантемы (т. е. пятна) на третий день заболевания. Следует помнить, что при чуме возможны изменения глаз, которые не сопровождаются их поражением. К ним относят расширение венозных сосудов и капилляров, незначительные кровоизлияния в сосудистую оболочку.

Крайне редко возможен занос бактерий в носослёзный проток, что приводит к инфекции слёзного мешка и, как следствие, его воспалению (дакриоцистит). При всей редкости патологии у детей встречается чаще, чем у взрослых (Рис. 13.10).

---

[1] 1874–1933; российский и советский врач, офтальмолог, первый заведующий кафедрой глазных болезней Императорского Николаевского университета (ныне – Саратовский государственный университет им. Н. Г. Чернышевского).

[2] Перечисленные патологии схожи с таковыми у чернохвостых оленей, рассмотренными в Главе 10.

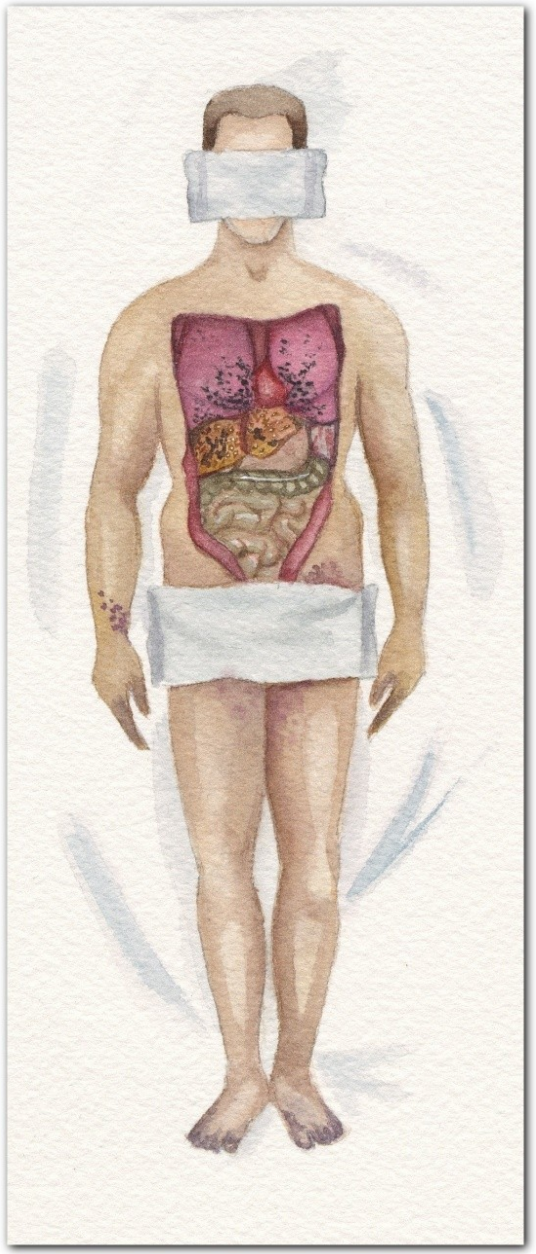
* * *

На патологоанатомическом вскрытии в первую очередь обнаруживается первичный бубон (если он не успел зарубцеваться). Как правило, он имеет вид опухолевидного образования, плохо контурированного из-за периаденита (т. е. воспаления, переходящего на кожу). На разрезе лимфатические узлы, составляющие его центр, спаяны, поэтому определить границы каждого отдельного лимфатического узла весьма затруднительно. Сами лимфатические узлы, а также окружающая их сетчатка обильно пропитаны кровью или серозно-кровянистой жидкостью. Возможно наличие участков некроза в виде серых (иногда серо-жёлтых) полей. Если некроз появился на ранней стадии заболевания (что является важным морфологическим признаком), то на разрезе центральная часть бубона будет некротизирована, как правило, серого (иногда серо-жёлтого) цвета, а вокруг бубона будут располагаться участки серозно-геморрагического пропитывания (Рис. 13.11). Кровеносные сосуды и капилляры расширены и заполнены кровью. Встречаются обильные бактериальные массы, особенно в субкапсулярных синусах лимфатических узлов. Владимир Константинович Высокóвич[1] писал, что местами наблюдается такая масса бактерий, что они представляются как бы морем, в котором отдельные клетки лежат как островки. Возможно обнаружение свища, благодаря которому отделяется гной, если смерть наступила после прорыва бубона.

Крайне редко можно обнаружить «первичные аффекты» в виде спавшихся папул и фликтен (Рис. 13.12).

Селезёнка всегда увеличена (в 1–5 раз), плотная, может быть дряблой (обычно в случае смешанной инфекции). Цвет варьируется от красного до серо-красного. В капсуле часто наблюдаются кровоизлияния, редко возможна гиперплазия фолликулов и очаги некроза. Синусы резко расширены и обильно заполнены клеточными элементами (с преобладанием эритроцитов). В капсуле и трабекуле (т. е. структуре, образующей остов органа) всегда обнаруживаются отёк и гомогенизация. Артерии утолщены, местами пропитаны

[1] 1854–1912; украинский врач, патологоанатом, бактериолог, эпидемиолог. Организатор многих экспедиций по борьбе с эпидемиями холеры и чумы. В списках выпускников Императорского Харьковского университета (ныне – Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина) записан как Антон Высокович.



Вид тела человека, умершего от чумы, на патологоанатомическом вскрытии

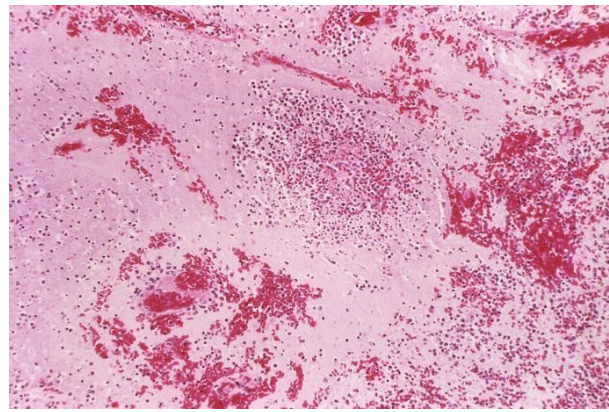


Рис. 13.11. *Ткань бубона (ув. 96х), полученная при посмертном вскрытии, окраска гематоксилин-эозином. Наблюдается медуллярный некроз*

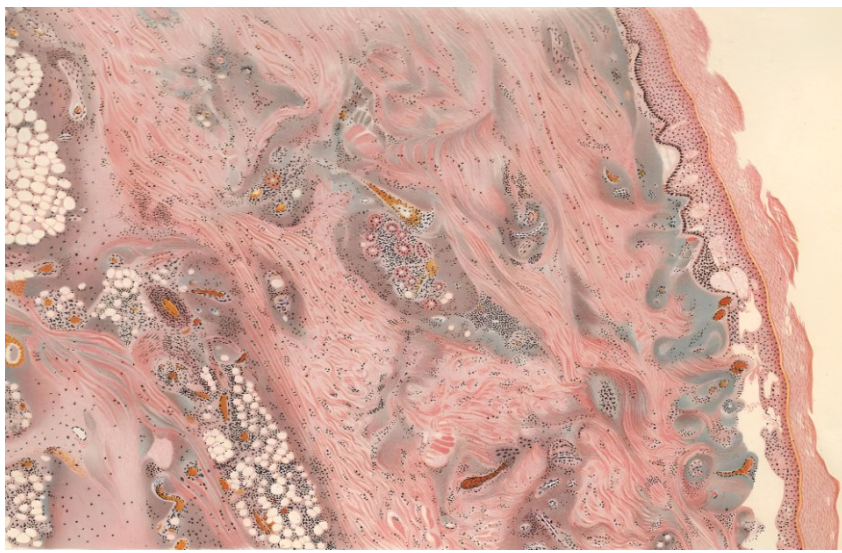


Рис. 13.12. *Срез кожи внутренней поверхности правой голени со спавшейся фликтеной (первичным аффектом) от пациента, умершего на седьмой день болезни во время эпидемии в городе Бомбей в 1897 году, окраска гематоксилин-эозином через 4 часа после смерти. Можно видеть крупные бактериальные скопления (от синего до красно-фиолетового), которые частично замещают ткани и плотно окружают протоки потовых желёз (по Albrecht H., 1898)*

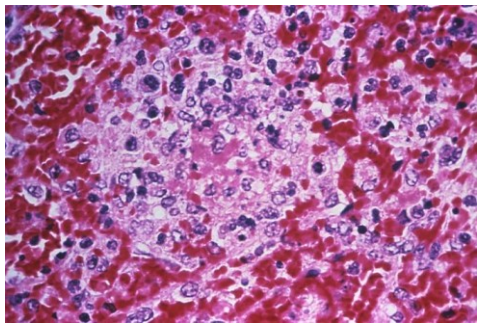


Рис. 13.13. *Ткань селезёнки (ув. 400х), полученная при посмертном вскрытии, окраска гематоксилин-эозином. Наблюдается общее воспаление артериол с кровоизлияниями*

серозной жидкостью (Рис. 13.13). Бактерии обнаруживаются крайне редко.

В печени, как правило, определяются в различной степени выраженные дистрофические изменения в виде зернистой дистрофии или ожирения. Часто наблюдаются мелкие или крупные кровоизлияния, возможны очаги некроза[1]. Характерны изменения со стороны внутридольковых капилляров, междольковых артерий и вен. Часто обнаруживаются гиперплазия капиллярного эндотелия с отслаиванием и проникновением клеток в просветы капилляров, а между капилляров – скопления серозной жидкости. В артериях и венах, а также в периваскулярной соединительной ткани наблюдаются мелкие и крупные воспалительные инфильтраты (макрофаги, лимфоидные клетки), возможны тромбозы (Рис. 13.14).

В лёгких обнаруживаются мелкие очаги, а если смерть наступила на поздних стадиях инфекционного процесса – крупные. Располагаются они во всех долях лёгких, как поверхностно (под плеврой), так и в глубине. Цвет очагов варьируется от серого до серо-жёлтого, серо-красного и красного. Наблюдаются многочисленные кровоизлияния как

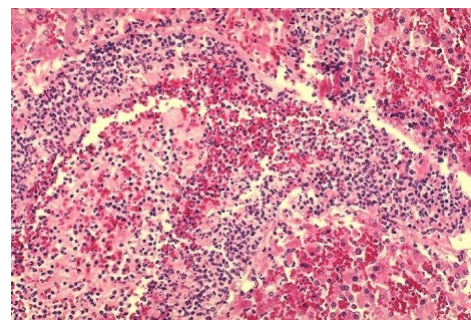


Рис. 13.14. *Ткань печени (ув. 200х), полученная при посмертном вскрытии, окраска гематоксилин-эозином. Наблюдаются некроз и тромбоз воротной вены*

[1] Советский врач Владимир Константинович Высокович сообщает, что в одном случае обнаружил вокруг очага некроза грануляционную ткань.

как вблизи очагов, так и в отдалении от них. Поверхность разреза часто гладкая. В плевральной полости возможно наличие ограниченных участков фибринозного или фибринозно-геморрагического экссудата с многочисленными кровоизлияниями. Альвеолы заполнены экссудатом, содержащим серозную жидкость, эритроциты, десквамированный (т. е. отслоённый) альвеолярный эпителий, лейкоциты и значительные скопления бактерий. Кровеносные сосуды часто набухшие, некротизированные (Рис. 13.15). На слизистой оболочке бронхов, по сведениям Чесла́ва Хенци́нского[1], бывает обильный слизистый налёт, содержащий полиморфоядерные лейкоциты, кровь, десквамированный эпителий и большое количество бактерий.

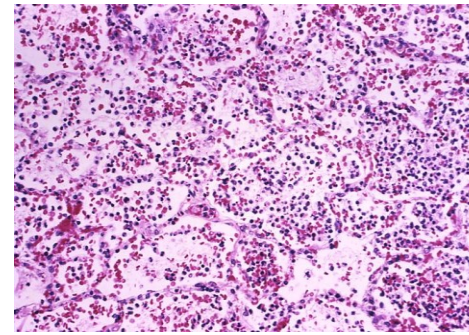


Рис. 13.15. *Ткань лёгкого (ув. 160х), полученная при посмертном вскрытии, окраска гематоксилин-эозином. Наблюдаются гнойная пневмония (с большим количеством полиморфноядерных лейкоцитов), набухание капилляров и внутриальвеолярный мусор*

Кора головного мозга также может оказаться отёчной. В симпатических ганглиях обнаруживаются тромбы в мелких сосудах и капиллярах, отёчность межуточной ткани, кровоизлияния, некрозы и скопления бактерий, а в ганглиозных клетках – вакуолиризация протоплазмы, кариолизис (т. е. растворение в цитоплазме клетки ядра) вплоть до полного распада клеток, что, по мнению Ивана Ивановича Широкогорова, может являться причиной тяжёлых вазомоторных расстройств. Дмитрий Павлович Кише́нский[2] (с кол-

[1] Czesław Chęciński, 1851–1916; польский врач, патологоанатом, бактериолог, эпидемиолог. Участник ликвидации эпидемии чумы и холеры в городе Одессе (1910); в России известен как Чеслав Иванович. Разработал метод двойного окрашивания клеток крови и кровяных паразитов (в частности, малярийного плазмодия).

[2] 1858–1933; российский и украинский врач, патологоанатом, участник ликвидации эпидемии чумы и холеры в городе Одессе (1910). Ректор Императорского Новороссийского университета (1913–1917); скончался в эмиграции.

легами) сообщает[1] о двух летальных случаях менингеальной формы, развившейся на фоне бубонной формы чумы. В первом случае при патологоанатомическом вскрытии обнаруживался абсцесс в левом полушарии мозжечка (размером 15 х 20 мм) с кровоизлиянием. В сосудах мозжечка около абсцесса обнаруживалось разрастание эндотелия и инфильтрация интимы лейкоцитами. Сосудистые сплетения боковых желудочков обильно инфильтрированы лейкоцитами. Во втором случае при патологоанатомическом вскрытии обнаруживались кровоизлияния в стенках боковых желудочков. В сосудистых сплетениях и на стенках желудочков имелась масса зеленовато-жёлтого цвета, а в просветах желудочков – мутная жидкость зеленоватого цвета. Третий и четвёртый желудочек, а также Сильвиев водопровод содержали гной. В обоих случаях в гное обнаружена *Y. pestis*.

В сердце чаще всего наблюдаются кровоизлияния в перикарде и эндокарде, зернистая дистрофия в миокарде.

Поражения почек весьма разнообразны и лишены специфичности. Большинство исследователей отмечают их увеличение и дрябловатость. Обращает на себя внимание увеличение и набухание клубочков, которые на разрезе заметны невооружённым глазом. Возможны кровоизлияния в слизистой оболочке лоханок, а также точечные кровоизлияния в области коркового слоя. Присутствует значительная зернистая и жировая дистрофия эпителия канальцев, которая может находиться на грани тяжёлого нефроза (т. е. поражения почечных канальцев). Местами на эпителии канальцев обнаруживается некроз, который может быть выражен настолько сильно, что следует говорить уже о некротическом нефрозе. В просвете канальцев иногда можно обнаружить гиалиновые цилиндры (при жизни возможна цилиндрурия, Рис. 13.16). В результате в моче обнаруживаются эритроциты, а также клетки почечного эпителия и белок, при этом в случае альбуминурии цилиндры могут не обнаруживаться. Часто встречается бактериурия (Рис. 13.17), которая протекает до четвёртого этапа (до вторичной септической формы), вероятно, на фоне размножения бактерий в селезёнке и

[1] Кишенский Д. П., Тизенгаузен М. М., и др. *Патологическая анатомия чумы*, в сборн. *Чума и холера в Одессе в 1910 году: патолого-анатомическая часть*, Одесса: Изд. Одес. гор. обществ. упр., Тип. Л. Нитче, 1911, 220 с.

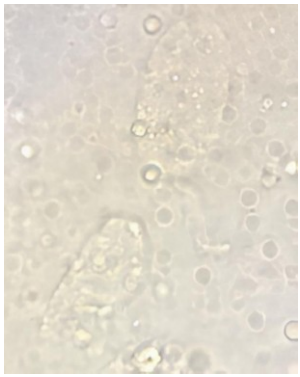


Рис. 13.16. *Гиалиновые цилиндры в моче*

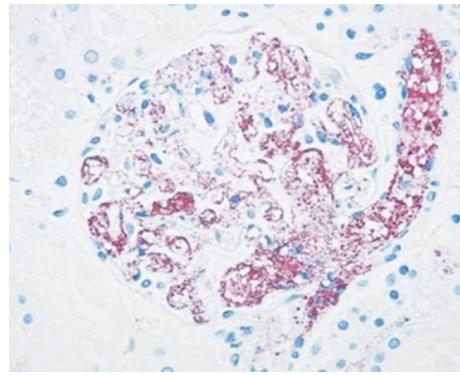


Рис. 13.17. *Ткань почки (ув. 100х), иммуногистохимическое окрашивание. Можно видеть присутствие капсульного антигена, очерчивающего кровеносные сосуды в клубочках (по Ната Н. О., 2022)*

печени. Развитие бактериурии связывают с кровоизлияниями в мочевыводящие пути.

В надпочечниках возможны кровоизлияния, явления некробиоза, полнокровие, слущивание эндотелия в капиллярах коркового слоя и иногда мелкоклеточная инфильтрация. По мнению В. В Донско́го[1], изменения надпочечников являются одним из основных факторов, приводящих к летальному исходу.

Что касается органов пищеварения, то при патологоанатомическом исследовании обнаруживаются множественные кровоизлияния с язвами, в основном в желудке и толстом кишечнике, обычно локализующиеся в слизистой и подслизистой оболочках, что объясняет наличие крови в рвотных массах и кале. Редко кровоизлияния могут быть обнаружены на серозном покрове. Брыжеечные лимфатические узлы, как правило, воспалены (вторичные бубоны), крайне редко образуют бубон (по типу так называемых первичных бубонов). Имеются изменения лимфатического аппарата кишечной стенки в виде гиперплазии пейеровых бляшек и солитарных

[1] Донсков В. В. *Поражения надпочечников как один из основных танатогенных факторов при чуме.* Медицинский бюллетень (Иркутск). 1939; 1:23. О данном авторе известно только, что он был сотрудником Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока.

фолликулов [1]. Перитонит (т. е. воспаление листков брюшины) встречается крайне редко. Описаны случаи гастроэнтерита (т. е. воспаления слизистой оболочки желудка, тонкой и толстой кишки).

Редко патологические изменения обнаруживаются в поджелудочной железе (Рис. 13.18). Так, Дмитрий Павлович Кишенский (с коллегами) указывает на наличие гиперемии, отёка и круглоклеточных инфильтратов в межуточной ткани, а также дистрофии железистого эпителия. Сообщает об одном случае обнаружения кровоизлияния и бактериального скопления в головке поджелудочной железы. Он же сообщает о гиперемии и отёке межуточной ткани щитовидной железы, а также окружающей её клетчатки. В просветах сосудов обнаруживаются скопления лейкоцитов и бактерий, а в стенках – дистрофические и некротические изменения. В тимусе (в одном трупе ребёнка) обнаружены воспалительные инфильтраты и отёк соединительной ткани, гиперемия и скопления лейкоцитов в сосудах.

Желчный пузырь увеличен и покрыт множественными мелкими кровоизлияниями, желчеотделение увеличено. Желчь тёмно-зелёного цвета, часто содержит бактерии. Евгения Никитична Алёшина[2] в опыте[3] на мышах доказала, что чумные микробы способны элиминироваться (т. е. выделяться) с желчью:

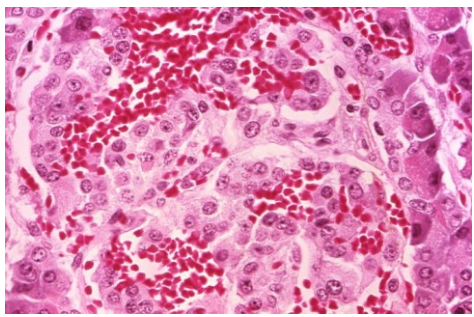


Рис. 13.18. *Ткань поджелудочной (ув. 400х), полученная при посмертном вскрытии, окраска гематоксилин-эозином. Наблюдаются очаговые кровоизлияния в клетках Лангерганса*

[1] Данные изменения аналогичны тем, что обнаруживаются у животных при пероральном инфицировании (см. Главу 11).

[2] Советский (российский) врач, бактериолог, участник ликвидации эпидемиологической опасности на правом берегу Волги (1944), занималась подготовкой научных кадров в годы Второй мировой войны.

[3] Алёшина Е. Н. *Элиминация чумного микроба желчью и мочой при подкожном методе заражения белых мышей.* Труды Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института. 1945; 4:12–14.

после подкожного заражения белых мышей *Y. pestis* высевается из желчи уже через 10 минут.

Со стороны скелетной мускулатуры наиболее значительные изменения обнаруживаются в мышцах, расположенных вблизи бубонов. Наблюдается их гиперемия, отёк, некроз (вплоть до полного распада мышечных волокон), а также скопление значительного количества полиморфоядерных лейкоцитов и бактерий, которые местами закупоривают просветы капилляров. В межмышечной соединительной ткани наблюдаются геморрагии и некрозы со скоплением лейкоцитов. У отдалённых от бубонов мышц обнаруживаются различной степени коагуляционный некроз и повреждение сарколеммы (т. е. клеточной мембраны мышечного волокна).

Особо характерных изменений половых органов не обнаружено. Редко обнаруживаются кровоизлияния, отёки и воспалительные инфильтраты. Возможно наличие бактерий.

Со стороны костного мозга возможны выраженная гиперемия, кровоизлияния и изменение клеточного состава (увеличение количества эозинофильных миелоцитов и мегакариоцитов), а также резкое полнокровие. В просветах кровеносных сосудов наряду с эритроцитами могут обнаруживаться скопления лейкоцитов и бактерий. При этом, по сообщению[1] Марии Бальтазаровны Станишéвской[2], при затяжном течении гиперемия и кровоизлияния менее выражены.

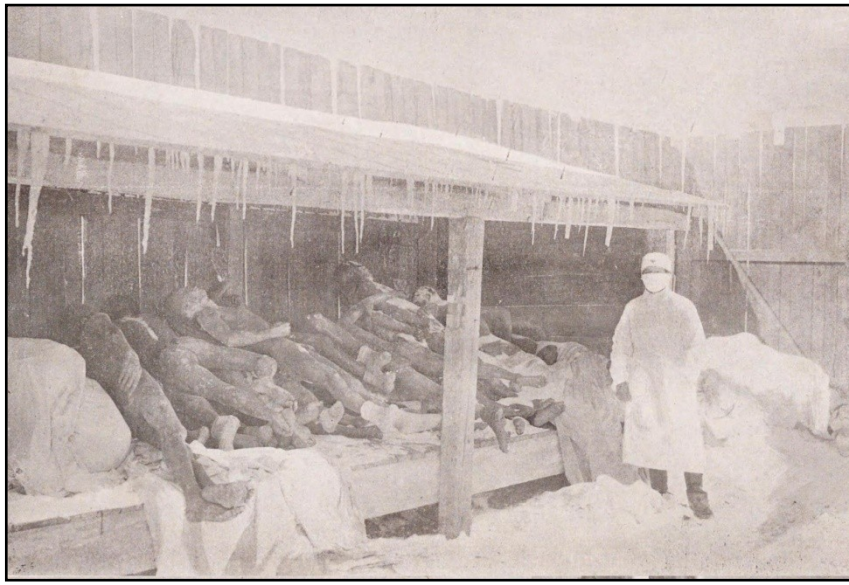
---

[1] Станишевская М. Б. *Патологическая анатомия костного мозга при чуме*, в сборн. *Чума и холера в Одессе в 1910 году: патолого-анатомическая часть*, Одесса: Изд. Одес. гор. обществ. упр., Тип. Л. Нитче, 1911, 220 с.

[2] 1871–1937; украинский врач, инфекционист, первая женщина-преподаватель (приват-доцент) медицинского факультета Императорского Новороссийского университета (ныне – Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова) и первая женщина, защитившая в его стенах диссертацию. Участница ликвидации чумы и холеры в городе Одессе (1910).







▲ *Трупы, ожидающие исследования на улице, и*
◄ *патологоанатомические исследования трупов*
ребёнка (верхняя фотография) и взрослого (нижняя фотография)
в городе Харбин (Южная Маньчжурия) в ноябре 1910 года
во время эпидемии лёгочной чумы (1910 – 1911).
Это была последняя крупная эпидемия, унесшая жизни более 60 тысяч человек. Обратите внимание, что некоторые медицинские работники русской миссии (нижняя фотография) не используют средств индивидуальной защиты органов дыхания, поскольку последние только входили в употребление (в основном стараниями У Ляньдэ). В результате потери среди медицинского персонала (русских, китайцев, японцев и французов) были огромными. Один из заразившихся, российский студент Илья Васильевич Ма́монтов (1889 – 1911), в предсмертном письме матери напишет:
«Мне казалось, что нет ничего лучше жизни. Но из желания сохранить её я не мог бежать от опасности, которой подвержены все... Надо верить, что все это не даром и люди добьются, хотя бы и путём многих страданий, настоящего человеческого существования на земле…»
Фотографии из『明治四十三四年南滿州「ペスト」流行誌附録寫眞帖』
(«Отчёт о чуме в Южной Маньчжурии в 1910 году»)

14 ПЕРВИЧНАЯ СЕПТИЧЕСКАЯ ЧУМА

10 сентября 2009 года[1] *в городе Чикаго (штат Иллинойс, США) 60-летний мужчина-исследователь с инсулинозависимым диабетом, гипертензией и гиперлипидемией обратился в клинику, поскольку последние три дня у него имелись лихорадка, озноб, одышка, сухой кашель и слабость. Заподозрив грипп или иную респираторную вирусную инфекцию, врач направил его в отделение неотложной помощи, однако пациент не послушал. Уже 13 сентября он был доставлен в больницу скорой помощью с сатурацией 92% на фоне ухудшения симптомов. По прибытии в больницу были выявлены дыхательные шумы, вздутие живота, периферический цианоз, следовые отёки стоп. Лимфаденопатия, сыпь или желтуха отсутствовали. Рентгенограмма грудной клетки была в норме, однако у пациента по-прежнему имелось затруднённое дыхание, и ему требовался дополнительный кислород. Были выявлены почечная недостаточность, начальный ацидоз (т. е. смещение кислотно-щелочного баланса), повышение ферментов печени (аспартатаминотрансфераза 794 ед/л при норме <40 ед/л; аланинаминотрансаминаза 160 ед/л при норме <40 ед/л) и выраженный лейкоз (лейкоциты 79,2 х 10^9/л при норме 4–9 х 10^9/л) со сдвигом влево (22% палочкоядерных форм)*[2]*. В мазке крови обнаружены бактерии.*

Первоначально пациента лечили диуретиками, поскольку подозревали застойную сердечную недостаточность, а затем антибиотиками (ванкомицин и пиперациллин + тазобактам внутривенно), подозревая инфекцию. Примерно через 12 часов после госпитализации у пациента усилилась дыхательная недостаточ-

[1] Frank K. M., Schneewind O., et al. *Investigation of a researcher's death due to septicemic plague*. N Engl J Med. 2011; 364(26):2563–2564; DOI: 10.1056/NEJMc1010939; Ritger K., Black S., et al. *Fatal Laboratory-Acquired Infection with an Attenuated Yersinia pestis Strain (Chicago, Illinois)*, Morb Mortal Wkly Rep. 2011; 60(7):201–205.

[2] Под сдвигом лейкоцитарной формулы влево понимают сильное увеличение продукции нейтрофилов в ответ на инфекцию, когда в периферический кровоток выходят их незрелые палочкоядерные формы (в данном случае их 22% при норме 1–5%).

ность, и он был интубирован. Ещё через час, несмотря на реанимационные мероприятия, он умер от остановки сердца. 18 сентября бактерии из крови были идентифицированы как Y. pestis, причём это был аттенуированный (т. е. полученный в результате искусственного ослабления) непигментирующий штамм Y. pestis UC91309, который, как выяснилось, содержал гены устойчивости к антибиотикам и не встречался в природе. Это был штамм, искусственно созданный исследователем в рамках научной работы в Чикагском университете. Последний раз он работал в лаборатории 4 сентября и уже 10 сентября сообщил руководству о заболевании.

Ранее мы говорили, что область пигментации *pgm* включает локус *hms* и остров высокой патогенности (HPI), на котором локализованы гены *ybt*, участвующие в синтезе йерсиниабактина, ответственного за захват железа бактерией. Отсутствие *pgm* делает штамм непигментирующим (пишут: pgm^- или Δpgm), то есть неспособным захватывать железо, которое необходимо для развития инфекционного процесса. Такие штаммы являются аттенуированными и часто используются в качестве вакцинных.

Однако патологоанатомическое вскрытие выявило высокое содержание железа в печени без цирроза[1] (Рис. 14.1-A), а генетическое исследование – мутацию C282Y , то есть недиагностированный наследственный гемохроматоз, при котором в организме происходит значительное накопление железа и, соответственно, бактерия может удовлетворять свои потребности без йерсиниабактина[2].

Способ заражения не установлен, однако патологоанатомическое вскрытие выявило в лёгких открытые воздушные пространства и сохранившуюся альвеолярную структуру (Рис. 14.1-C), что указы-

[1] Посмертное исследование образцов крови выявило общее железо сыворотки 96 мкмоль/л (норма 11–28 мкмоль/л), насыщение железом 83,5% (норма 14–50%) и общую железосвязывающую способность 116 мкмоль/л (норма 45,3–77,1 мкмоль/л).

[2] Необходимо отметить, что о влиянии железа на рост и вирулентность непигментирующих штаммов известно ещё с середины 50-х годов прошлого века, поэтому препараты железа, например, декстран $Fe(OH)_3$ или коллоидный раствор хондроитинсульфата железа (неорганические соединения железа в чистом виде весьма токсичны) используются для повышения *остаточной вирулентности* (так называемая «условная вирулентность») в животных моделях без роста риска для исследователя.

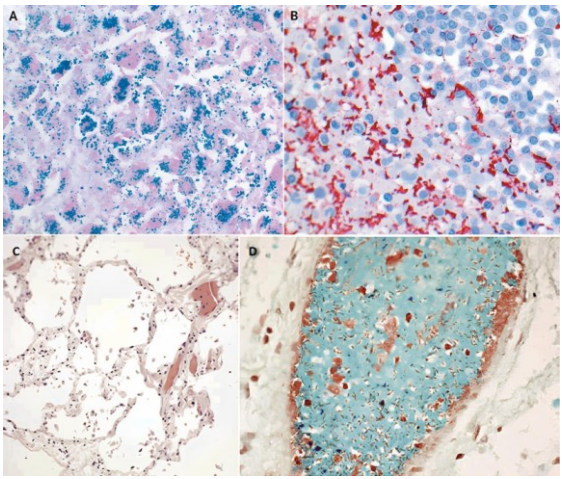


Рис. 14.1. *Ткани печени (A), селезёнки (B) и лёгкого (C и D), гистохимическое и иммуногистохимическое окрашивания. В гепатоцитах печени (A) обнаруживаются значительные отложения железа (окрашено синим), которых нет в тканях поджелудочной железы и сердца (не показано). В селезёнке (B) наблюдаются многочисленные бактерии (окрашено красным). Лёгочная ткань (C) сохраняет альвеолярную структуру (открытые воздушные пространства) без воспалительных инфильтратов. В просвете лёгочного сосуда (D) обнаруживаются скопления бактерий (A и B по Frank K. M., 2011; Copyright © 2011 The Massachusetts Medical Society, публикуется с разрешения правообладателя; C и D по Ritger K., 2011)*

вает на то, что у умершего не было лёгочных процессов, характерных для бубонной или первичной лёгочной форм чумы (ср. Рис. 15.1). Всё это говорит о прямом проникновении возбудителя в кровь (первичную септическую форму), которое могло произойти, например, в результате повреждения кожных покровов при лабораторном заражении биопробных животных (говоря проще, исследователь не заметил, как укололся[1]).

Первичная септическая форма реализуется при лабораторном заражении (как было показано выше) либо реже при укусе инфицированной блохой непосредственно в кровяное русло (вену). Возможно заражение и при укусе инфицированным животным, когда в его пасти имеются бактерии (например, кровь недавно съеденного инфицированного суслика), однако документально зарегистрированные случаи не известны. При этой форме бактериемия воз-

[1] Именно по этой причине после снятия защитного костюма и мытья рук следует обработать их спиртом (если имеется повреждение кожи, то будет щипать). Подробнее о правилах безопасного снятия защитного костюма поговорим в Главе 28.

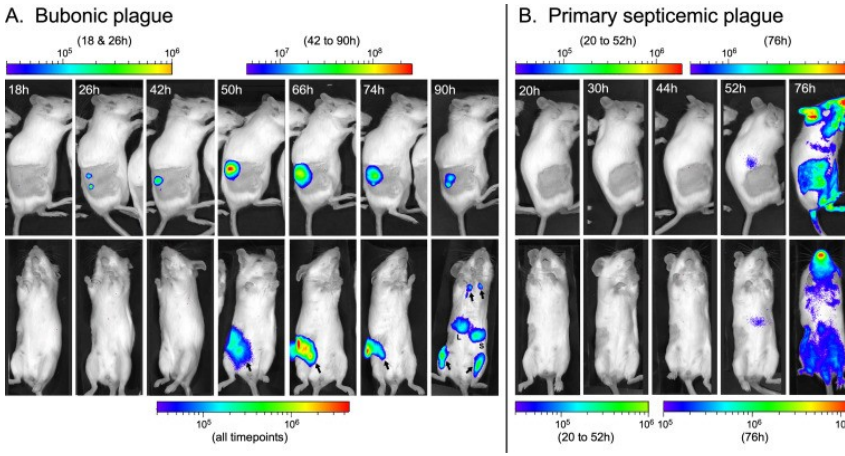


Рис. 14.2. *Развитие инфекционного процесса при бубонной (A) и первичной септической (B) формах чумы в течение четырёх суток после укуса блохи (мышиная модель, биолюминесцентный штамм Y. pestis pGEN-luxCDABE). При бубонной форме чумы биолюминесценция от дермы обнаруживается в месте укуса в течение двух часов после заражения (верхний ряд), увеличиваясь по интенсивности в последующие дни, что указывает на размножение бактерий. Диссеминация бактерий в дренирующий лимфатический узел (отмечено стрелками) обнаруживается в течение трёх дней (нижний ряд), а системное распространение с размножением возбудителя в печени (L) и селезёнке (S) – уже на четвёртый день. При первичной септической форме чумы бактерий в месте укуса и в дренирующем лимфатическом узле не обнаружено (отсутствует биолюминесценция), а биолюминесцентный сигнал впервые обнаруживается на третий день на периферии, стремительно переходя в генерализованный процесс уже на четвёртые сутки (по Bosio C. F., 2020)*

никает без поражения лимфатических узлов и формирования бубона (Рис. 14.2 и Рис. 14.3), а механизм в целом аналогичен таковому при вторичной септической форме. Однако поскольку отсутствует капсула (капсульный антиген$^{\{pPla\}}$), но присутствуют 6-ацильный ЛПС (который связывается с рецепторным комплексом TLR4/MD2), неэкранированные активатор плазминогена$^{\{pPla\}}$ и Ail$^{\{хромосома\}}$, достаточно быстро возникает значительный иммунный ответ (бактерии легко улавливаются фагоцитами, в первую очередь моноцитами (именно эти ребята, циркулируя в кровотоке 1–2 дня, осядут в тканях и станут резидентными макрофагами)), что и объясняет незначительную лимфаденопатию (без формирования бу-

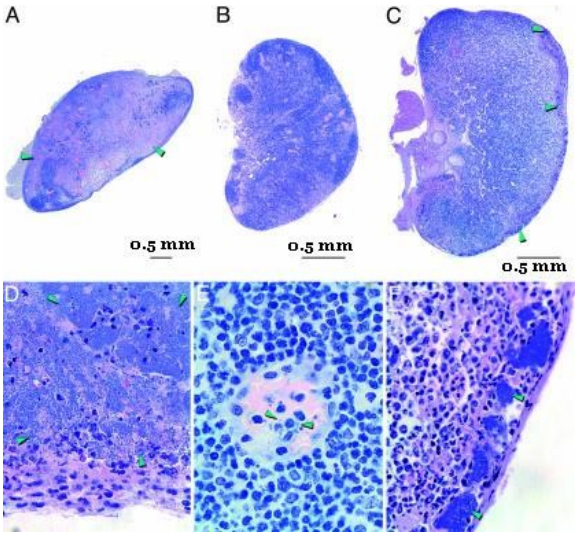


Рис. 14.3. *Проксимальные к месту укуса лимфатические узлы (мышиная модель, заражение блохой), инфицированные Pla+- и Pla--штаммами Y. pestis 195/P. При бубонной форме в случае Pla+-штамма (A и D, ув. 600x) обнаруживается тяжёлая лимфаденопатия, характеризующаяся разрушением нормальной ткани и её замещением множеством бактерий (крупные скопления отмечены зелёными стрелками). При первичной септической форме в случае Pla+-штамма (B и E, ув. 1000x) и Pla--штамма (C и F, ув. 600x) обнаруживаются лимфатические узлы без патологических изменений, а внеклеточные бактерии (отмечены зелёными стрелками) являются либо внутрисосудистыми (E), либо локализованными в небольших периферических скоплениях (F), ассоциированными с нейтрофильным воспалением (по Sebbane F., 2006; Copyright (2006) The National Academy of Science, U.S.A., публикуется с разрешения правообладателя)*

бонов), частое присутствие бактерий внутри сосудов и на периферии, а также фульминантное течение, приводящее к ДВС-синдрому, некрозу тканей и смерти. Как правило, последняя наступает после поражения печени и селезёнки (Рис. 14.4), но до диссеминации в другие органы (хотя возможно и поражение лёгких с развитием вторичной лёгочной формы, Рис. 14.5).

Важно отметить, что развитие этой формы происходит преимущественно Pla-негативными штаммами[1], поскольку они редко способны реализовать первый этап инфекционного процесса (ввиду отсутствия активатора плазминогена{pPla}).

[1] В мышиных моделях при использовании Pla-негативных штаммов у всех мышей развивается первичная септическая форма чумы, тогда как при использовании Pla-позитивных – только у 25%.

* * *

На патологоанатомическом вскрытии, с одной стороны, обнаруживается отсутствие поражения бубонов, а с другой стороны, особенно многочисленные и обширные кровоизлияния в коже, серозных оболочках и внутренних органах, хотя крайне редко изменения и могут сводиться лишь к наличию мелкой геморрагической сыпи. То есть в целом обнаруживается классическая картина сепсиса.

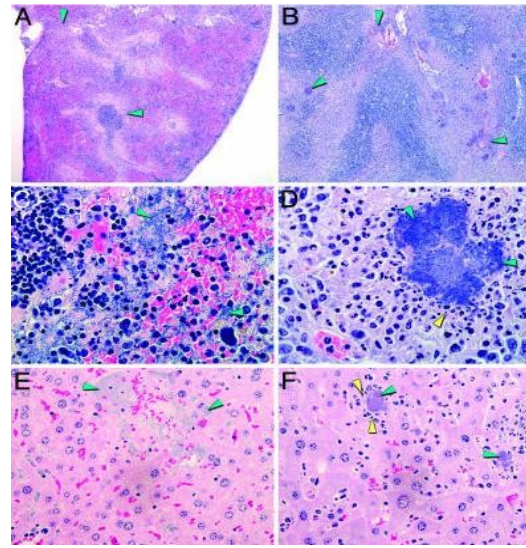


Рис. 14.4. *Ткани селезёнки (A-D) и печени (E и F) при первичной септической форме (мышиная модель, заражение блохой), вызванной Pla+(левый столбец) и Pla-(правый столбец) штаммами Y. pestis 195/P. Внеклеточные бактерии (зелёные стрелки) широко распространены в случае Pla+-штамма и значительно реже в случае Pla--штамма, однако во втором случае бактерии чаще содержатся в гранулематозных поражениях (жёлтые стрелки), окружённых деградирующими клетками-хозяевами; A и B, ув. 4x, C, ув. 600x, D-F, ув. 400x (по Sebbane F., 2006; Copyright (2006) The National Academy of Science, U.S.A., публикуется с разрешения правообладателя)*

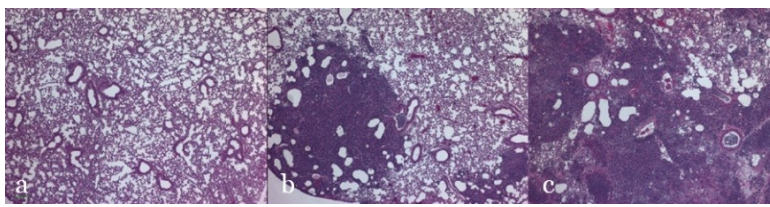


Рис. 14.5. *Ткань лёгкого при первичной септической форме (мышиная модель, инъекционное заражение внутривенно штаммом Y. pestis CO92), окраска гематоксилин-эозином. Через 24 часа (a) патологические изменения не наблюдаются, тогда как через 48 часов (b) наблюдаются крупные воспалительные очаги, плотно заполненные нейтрофилами. Через 72 часа (c) наблюдается увеличение очагов по размеру и по количеству, что свидетельствует о гипервоспалении (любезно предоставлено Prof. William E. Goldman, публикуется впервые)*

Поражения селезёнки (которая может быть увеличена), печени и лёгких (а в некоторых случаях и почек) вследствие быстротечности инфекционного процесса в целом незначительные и, можно сказать, поверхностные. Так, на Рис. 14.1-С и Рис. 14.5 видно, что лёгочная ткань воспалена, однако сохраняется альвеолярная структура, чего не наблюдается при вторично-септической форме (Рис. 13.14).

15 ПЕРВИЧНАЯ ЛЁГОЧНАЯ ЧУМА

Декабрь 1939 года. В Ново-Екатерининской больнице, что у Петровских ворот[1], дежурный врач и по совместительству ассистент кафедры терапии Первого московского медицинского института Си́мон Зе́ликович Горе́лик[2] ведёт приём. Выпускник медицинских факультетов Сорбонны и Женевского университета, прекрасный семьянин и образованный интеллигент, он отрабатывал свой последний день перед переездом на новое место, где ему предстояло открыть в себе руководителя. Чемоданы были уже собраны. Последним посетителем был 36-летний мужчина, которому немногим ранее другим врачом был поставлен диагноз «крупозная пневмония» (т. е. воспаление нескольких долей лёгкого, вызванное пневмококком). Этим посетителем был Абрам Львович Берлин (он уже нам встречался во время обсуждения таксономии), в прошлом директор Санитарно-бактериологического института в городе Улá́н-Ба́тор (Монголия), организатор эпидемиологической службы в Монгольской Народной Республике, а ныне – заместитель директора противочумного института «Микроб»[3]. Он был срочно вызван в

[1] Здание № 15/29 на углу ул. Петровки и Страстного бульвара (бывш. усадьба князей Гагариных) в городе Москве (Россия). В то время клиническая база Первого московского медицинского института), а ныне – одно из зданий Московской городской думы.

[2] 1885–1939; советский (белорусский) врач, терапевт.

[3] Государственный краевой институт микробиологии и эпидемиологии Юго-Востока России – институт «Микроб» Народного комиссариата здравоохранения

Москву для доклада в Народном комиссариате здравоохранения, поэтому не успел пройти положенную шестидневную обсервацию, хотя de jure и был тщательно обследован перед выездом. Диагноз был очевиден: первичная лёгочная чума[1]. Запершись с больным, Симон Зеликович сообщил о диагнозе руководству…

Врач Яков Львович Рапопо́рт[2], производивший патологоанатомическое вскрытие, впоследствии напишет: «Зная о неизбежном роковом исходе (от лёгочной чумы спасения не было), с уже наступающими признаками болезни, Горелик до последнего часа оказывал возможную помощь умирающему Берлину, пытаясь облегчить его страдания. Потом, в своей самоизоляции, он писал письма родным и товарищу Сталину. Стоя на краю могилы, Горелик обращался к Сталину с просьбой за арестованного брата[3], разделившего судьбу многих жертв беззакония сталинского безвременья. Эти письма были сожжены вместе с Гореликом». Его выдержка и профессиональный героизм не нашли должной оценки ни при жизни, ни после смерти. Поэтому малое, что мы можем сделать, – это почтить память Симона Зеликовича хотя бы на страницах этой книги.

Выявление и карантинизация контактных лиц[4], проведённые совместно с сотрудниками Московской городской наблюдательной станции[5], позволили избежать распространения инфекции, ограничившись небольшим количеством смертей. События той зимы

РСФСР. В настоящее время – Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Головное учреждение противочумной системы.

[1] Имеются сведения, что заражение наступило из-за нарушения правил биологической безопасности (будут подробно рассмотрены в Главах 27 и 28), а именно нахождения в «заразной» зоне без средств индивидуальной защиты органов дыхания.

[2] 1898–1996; советский (украинский) врач, патологоанатом, военно-полевой врач, заслуженный деятель науки РСФСР (1970).

[3] Речь идёт об Абраме Захаровиче Лежнёве (настоящее имя – Абрам Зеликович Горелик), литературном критике, расстрелянном годом ранее. Реабилитирован Военной коллегией Верховного суда СССР 11 августа 1956 года.

[4] Среди них были в том числе пассажиры поезда, сотрудники гостиницы, парикмахер, а также Михаил Россельс, первый врач, который, как говорят, торопился на день рождения и не был инфицирован.

[5] Структурное подразделение Центрального института эпидемиологии и микробиологии Народного комиссариата здравоохранения РСФСР; ныне – Противочумный центр Роспотребнадзора.

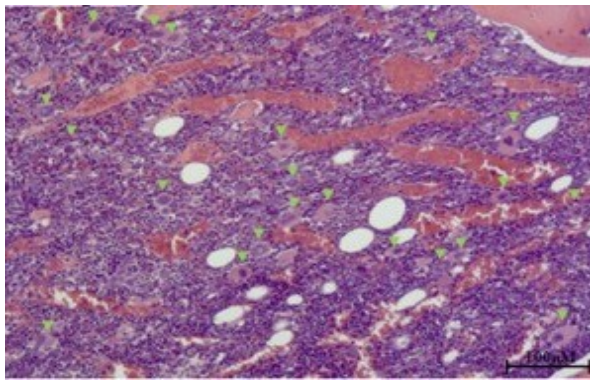


Рис. 15.1. *Ткань костного мозга на срезе бедренной кости через 48 часов (мышиная модель, интраназальное заражение штаммом Y. pestis KIM53), окраска гематоксилин-эозином. Наблюдается значительное скопление кровеносных сосудов вдоль костного мозга (красные пятна, напоминающие отёк); зелёными стрелками отмечено значительное количество мегакариоцитов (по Vagima Y., 2012)*

долгие годы оставались государственной тайной.

Первичная лёгочная форма (ранее – Pneumonia pestica), развивающаяся при аэрогенном заражении (например, во время ухода за больным вторичной лёгочной чумой), как и первичная септическая форма, характеризуется фульминантным течением и отсутствием бубонов, поскольку на фоне уже прогрессирующей пневмонии поражаются только трахеобронхиальные лимфатические узлы.

Инфекционный процесс в лёгких протекает в две фазы. На *предвоспалительной фазе* активатор плазминогена{pPla} обеспечивает связывание бактерии с клетками альвеолярного эпителия для размножения и подавляет ранний приток нейтрофилов в лёгкие (через блокировку секреции IL-6 и IL-8)[1]. Интересно, что хотя клетки костного мозга достаточно быстро реагируют на инфекцию, высвобождая нейтрофилы в кровообращение сразу после заражения, попасть в инфицированное лёгкое нейтрофилы сразу не могут (сами бактерии попадут в костный мозг только спустя 48 часов; Рис. 15.1). Далее активатор плазминогена{pPla} совместно с Yop-белками{pCad} (и, возможно, 4-ацильным ЛПС) ингибирует фагоцитоз, который могли осуществить альвеолярные макрофаги, а также нейтрофилы, попавшие спустя некоторые время в лёгкие, а продукты их распада (содержимое гранул и активные формы азота)

[1] Напомним: в случае вторичной лёгочной формы прикрепление обеспечивается pH6-антигеном{хромосома} и йерсиниабактином{хромосома}.

несут ответственность за повреждения ткани лёгких. При этом, по-видимому, единственным ответом на инфекцию является IL-1β (напомним: блокируется 1L-1RA). Сложно сказать, почему в данном случае капсула не экранирует активатор плазминогена[pPla], но можно предположить, что это происходит ввиду непрочной связи с бактерией: капсула истощается капельками жидкости, в которых происходит перенос бактерий от одного инфицированного до другого.

Провоспалительная фаза начинается только через 36–48 часов и сопровождается активацией провоспалительных цитокинов IL-6, IL-17, TNFα I, IFNγ, а также хемокинов CXCL1 и CCL2, что способствует массивному притоку нейтрофилов в альвеолярные пространства, из-за чего образуются плотно упакованные очаги воспаления, которые увеличиваются ввиду постоянного притока нейтрофилов (Рис. 15.2). Как следствие происходит значительное разрушение альвеол, сопровождающееся отёком, кровоизлияниями и, наконец, некрозом. На фоне массивной пневмонии, сопровождающейся плевральным выпотом, возможно поражение трахеобронхиальных лимфатических узлов (трахеобронхиальный лимфаденит, напоминающий вторичные бубоны). В отсутствие лечения смерть, как правило, наступает через 72 часа после заражения.

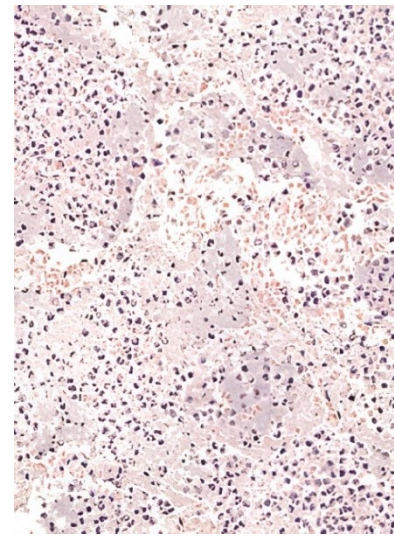


Рис. 15.2. *Ткань лёгкого при первичной лёгочной форме. Наблюдается обширное воспаление, присутствие полиморфоядерных лейкоцитов и множества бактерий. Обратите внимание, что в отличие от поражений при первичной септической форме (Рис. 14.1) отсутствуют открытые воздушные пространства*

Тут следует оговориться, что в случае аэрогенного заражения «непрогретыми» бактериями, например, при искусственном (на-

меренном) аэрогенном заражении или при разделке тушки убитого носителя, бактерия, как и в случае первичной септической формы, будет иметь 6-ацильный *Л*ПС (который связывается с рецепторным комплексом TLR4/MD2) и неэкранированные активатор плазминогена{pPla} и Ail{хромосома} (в отсутствие капсулы), что приведёт к сильному иммунному ответу на провоспалительной фазе, поскольку, как было сказано ранее, на предвоспалительной фазе активатор плазминогена{pPla} обеспечивает подавление притока нейтрофилов и избегание фагоцитоза ими. К сожалению, точные данные о механизме протекания инфекционного процесса при таком сценарии отсутствуют, однако, по оценкам[1], 50 кг бактериальной культуры, выпущенной в виде аэрозоля в 5-миллионном городе, могут привести к инфицированию 150 тысяч человек, из которых 80–100 тысяч человек будут госпитализированы, а 36 тысяч погибнут.

Крайне редко возможно развитие так называемого *пульмонарного типа* первичной *л*ёгочной формы, характеризующегося внезапной гиперемией и отёком *л*ёгких, при отсутствии в последних очагов уплотнения.

Развитием первичной *л*ёгочной формы является дальнейшее проникновение возбудителя в кровь (*вторичная септическая форма*, о которой говорилось ранее) и диссеминация в органы с развитием полиорганной недостаточности. Интересно, что этот процесс зависит от заражающей дозы. Так, при попадании малого объёма возбудителя поражаются в основном верхние дыхательные пути, после чего развивается вторичная септическая форма с множественными очагами воспаления в различных органах (в селезёнке возбудитель обнаруживается уже через 24 часа), от которой и наступает смерть. Предположительно, проникновение в кровь осуществляется через сосуды носовых пазух (*фарингеальная форма*[2]) и меньше через трахеобронхиальные *л*имфатические узлы. Напротив, при попадании большого объёма возбудителя поражаются в основном нижние дыхательные пути, развивается сильная пневмония, которая редко

[1] World Health Organization; Geneva, Switzerland: 1970. Health aspects of chemical and biological weapons.

[2] Крайне редкая форма, которая возникает в результате проглатывания или вдыхания чумных бактерий. Обычно поражаются миндалины и шейные лимфатические узлы. Возможен отёк околоушной области. Возбудитель выделяется, как правило, из носовых пазух и горла.

переходит во вторичную септическую форму (имеется незначительное количество очагов воспаления).

* * *

На патологоанатомическом вскрытии в лёгких обнаруживаются единичные или множественные очаги поражения различных размеров, локализующиеся в разных долях, но чаще в прикорневых отделах. Георгий Степанович Кулéша[1] так описывает увиденные у трупов во время эпидемии чумы в Маньчжурии (1910–1911) изменения: «Снаружи поражённые доли во всех случаях были более или менее кровоподтёчны и покрыты нежным фибринозным налётом… Разрез через гепатизированную[2] часть представлялся всегда однородным, то тёмнокрасным, серовато-красным или розовато-серым и, наконец, желтовато-серым. Часто одни доли находились в состоянии серой гепатизации, другие – красной; или центр гепатизации представлялся более серым, розовато- или желтовато-серым, периферия же была темнокрасная и отёчная, что говорило за эксцентрическое разрастание воспаления. Поверхность разреза через поражённую долю никогда не обладала той зернистостью, которая свойственна крупозной пневмонии, а была более или менее гладкой или шагревидной; с поверхности разреза стекала часто в обильном количестве мутная, кровянистая или гноевидная, несколько слизистая жидкость».

Имеющиеся участки некрозов чаще микроскопические, поскольку смерть наступает до того, как очаги распада достигнут значительных размеров. При сдавлении на поверхности разреза образуется кровянистая пенистая жидкость. В плевральной полости бывает небольшое скопление серозной или серозно-геморрагической жидкости, а также фибринозные отложения (после антибиотикотерапии), а под плеврой обнаруживаются множественные кровоизлияния. В лимфатических узлах корней лёгких и средостения можно видеть признаки воспаления.

Глоточные миндалины, как правило, значительно увеличены,

[1] 1866–1930; российский врач, патологоанатом, микробиолог. Участник ликвидации эпидемии чумы в Маньчжурии (1910–1911) и вспышек в Прикаспии (1911–1912).

[2] Т. е. уплотнённую, по консистенции напоминающую печень.

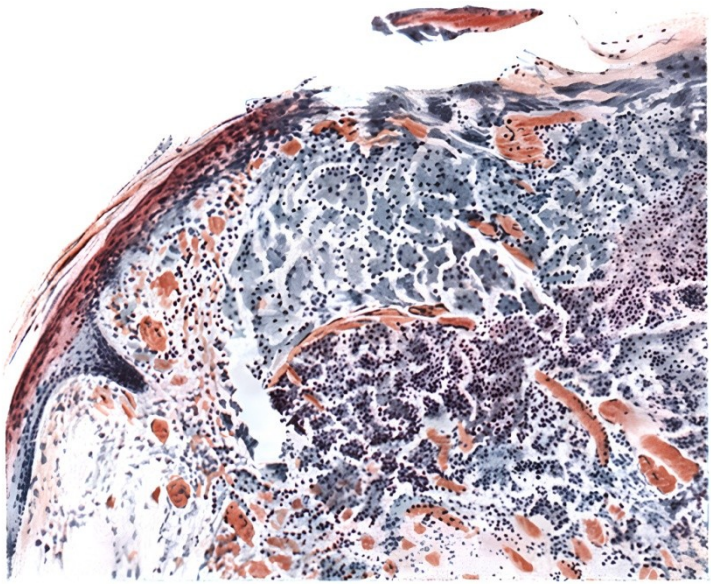


Рис. 15.3. *Ткань глоточной миндалины (ув. 12х), окраска эозином – метиленовым синим. Наблюдаются в одном месте некроз и отслоение многослойного плоского эпителия крипты. Оторвавшийся фрагмент и неповреждённые участки многослойного плоского эпителия обильно пропитаны бактериями (синие массы). Расположенная ниже лимфоидная ткань почти полностью вытеснена или заполнена бактериями, образующими в ней однородный слой (светло-голубой цвет). При этом в соседних тканях острой реакции не наблюдается. Сосуды, богатые кровью, пролегающие в местах скопления бактерий, окружены их плотными скоплениями (по Kulescha S. G., 1925; публикуется по лицензии The Springer Nature)*

ткань на разрезе сочная, полнокровная, редко с очагами кровоизлияния. Покровный эпителий (или, правильнее, многослойный плоский эпителий) крипты[1] может быть расслоен и иногда некротизирован (Рис. 15.3). В нём могут располагаться полости, содержащие гной и бактериальные массы (Рис. 15.4), а под ним обнаруживаются скопления лейкоцитов, лимфоцитов и макрофагов. В трахее (Рис. 15.5) и бронхах обычно не обнаруживается значительных патологий. На поверхности слизистой оболочки отмечается се-

[1] Криптой называют полость, образованную складками многослойного плоского эпителия миндалины.

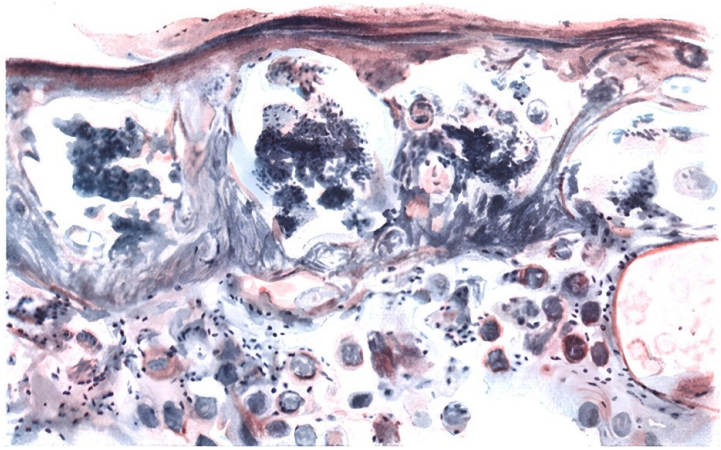


Рис. 15.4. *Ткань глоточной миндалины (ув. 16х), окраска эозином – метиленовым синим. Наблюдаются три полости, содержащие гной и бактериальные массы, в эпителиальном слое крипты. В подэпителиальном слое и вокруг кровеносного сосуда обнаруживаются многочисленные бактериальные скопления, ввиду чего бактерии через стенки кровеносного сосуда попадают в кровь*
(по Kulescha S. G., 1925; публикуется по лицензии The Springer Nature)

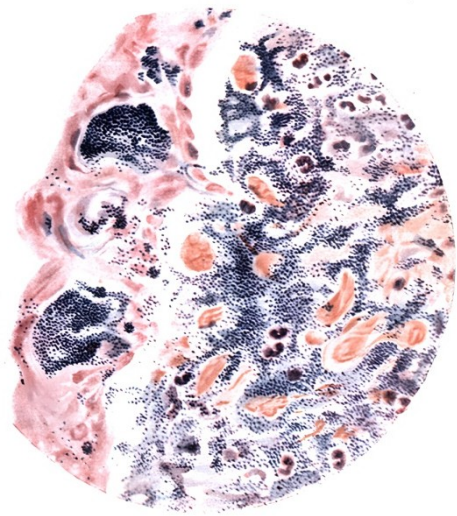


Рис. 15.5. *Ткань трахеи (ув. 12х), окраска эозином – метиленовым синим. Наблюдаются частичный некроз клеток цилиндрического эпителия (клетки плохо окрашиваются, спались и сморщены; также плохо окрашиваются ядра клеток базального слоя). Внутри отдельных бокаловидных клеток цилиндрического эпителия обнаруживаются бактерии овальной и неправильной форм (синего цвета). Массивные отложения бактерий почти полностью вытеснили подслизистую основу и зарастают кровеносные сосуды. В бактериальных массах количество полиморфоядерных лейкоцитов незначительно*
(по Kulescha S. G., 1925; публикуется по лицензии The Springer Nature)

розно-кровянистая пенистая жидкость, а непосредственно в слизистой оболочке иногда обнаруживаются кровоизлияния. В эпителиальном слое трахеи и крупных бронхиальных ветвях обнаруживаются значительные скопления бактерий в виде яйцевидных тел в бокаловидных клетках, которые и являются входными воротами. Возможны разрастания бактерий между клетками эпителия по направлению к подслизистой оболочке. В мелких сосудах стенки наполнены, а кровь смешана с бактериями. Причём бактерии обнаруживаются только в тех сосудах, которые проходят через очаги воспаления, то есть бактерии попадают в сосуды из поражённых тканей (Рис. 15.3–Рис. 15.5). Описанная патоморфологическая картина[1], названная Георгием Степановичем Кулешей «pestangina», является, по его мнению, фактическим доказательством возможности гематогенного происхождении чумной пневмонии, когда лёгочная форма чумы развивается при попадании чумного аэрозоля на слизистую рта и гортани (*тонзиллярная, глоточная* и *миндальная формы*[2]). Кроме того, им выдвинуто предположение, что именно таким образом заразился Абрам Львович Берлин, а также заражаются некоторые животные (например, верблюды).

Патологические изменения остальных органов схожи с таковыми при вторично-септической форме.



Образец ткани лёгкого от пациента, умершего во время эпидемии чумы в городах Кобе и Осака в 1899 году; окраска гематоксилином:
A – ткань лёгкого;
B – скопления бактерий;
C – клетки крови.
Изображение из 「神戸市大阪市ペスト病調査報告」 *(«Отчёт о расследовании чумы в городах Кобе и Осака»)*

[1] Kulescha S.G. *Beitrag zur pathologischen Anatomie der Lungenpest.* Virchows Archiv Für Pathologische Anatomie Und Physiologie Und Für Klinische Medizin. 1925; 254(1):174–183; DOI: 10.1007/bf02112658.

[2] Крайне редко реализация этой формы возможна через контакт слизистой рта с инфицированными руками.

16 МЕХАНИЗМЫ И ПУТИ

В Главе 6 мы рассматривали механизмы распространения инфекции, выделив трансмиссивный, контактный, аэрогенный и фекально-оральный. Из предыдущих глав очевидно, что трансмиссивный механизм приводит к бубонной и первичной септической формам чумы, тогда как контактный и аэрогенный (воздушно-капельный путь) – к первичной лёгочной форме.

Фекально-оральный механизм передачи инфекции является, пожалуй, самым редким, поскольку его реализация возможна при работе с фекалиями инфицированных животных. Ранее мы говорили, что при употреблении заражённой пищи у животного развивается генерализованная инфекция, обнаруживая характерные для вторичной септической формы поражения селезёнки и печени, а также незначительные поражения лимфоидных структур тонкого кишечника (как правило, его нижнего отдела). При этом с фекалиями возбудитель выделяется крайне редко (у домашних животных (собак и кошек), попавший в пищеварительный тракт возбудитель выделяется несколько чаще). Тогда, убирая за своим домашним любимцем и не соблюдая элементарные правила гигиены (мытьё рук) человек, может занести инфекцию на слизистые глаз или рта. С другой стороны, монгольский сурок, перед тем как отправиться в спячку, устраивает так называемые зимовочные пробки, которыми изнутри запирает норку. Эти пробки он формирует из камней, обвалянных в каловых массах, что скапливаются в специальных уборных (отнорках). И поскольку в норах часто обитают инфицированные блохи, возбудитель может присутствовать в фекалиях, из которых попадать в пасть сурка, поскольку последний доставляет «строительный материал» к выходу из норы в зубах (вспомним экологическую гипотезу происхождения чумного микроба). Выкапываемые человеком во время зимней спячки сурки, как правило, испачканы фекалиями, что позволяет возбудителю воздушно-пылевым (через дыхание) или контактным (через руки) путём инфицировать человека.

Воздушно-пылевой путь передачи инфекции чаще всего реализуется через разделку туши инфицированного животного и может

приводить к различным формам заболевания. Важно понимать, что поскольку заражающим объектом чаще всего является инфицированный носитель, то бактерия попадает в человека уже «прогретой». Рассмотрим конкретные случаи.

11 июля 2014 года[1] *на севере центральной части Китая в провинции Ганьсу 38-летний пастух во время выпаса овец отобрал у своей собаки гималайского сурка (Marmota himalayana), которого расчленил и скормил пяти собакам (включая нашедшую) его старший брат. Через два дня у мужчины поднялась температура, а 15 июня, когда состояние резко ухудшилось, он обратился в сельскую поликлинику (14 июня он был в городе Юймэнь у золовки (т. е. жены брата), где также говорил с соседями). Из поликлиники его перевели в местную больницу, где предварительно диагностировали инфекцию верхних дыхательных путей. Несмотря на лечение (жаропонижающее, противовоспалительные средства и клиндамицин) состояние ухудшилось, поэтому его перевели в Народную больницу Юймэня (Yumen People's Hospital). Обследование показало патологию обоих лёгких, а также частично расширенный кишечник, плевральный выпот левого лёгкого и перикардиальный выпот (т. е. скопление жидкости в полости перикарда), диагностирована тяжёлая пневмония. В 23:30 в образцах крови и мокроты были обнаружены грамотрицательные палочки с закруглёнными тёмными концами, диагностировано подозрение на чуму. 16 июня в 00:10 у пациента снизилось артериальное давление, появилась одышка и начала выделяться красная пенистая мокрота. В 5 утра, на фоне антибиотикотерапии (стрептомицин внутримышечно и гентамицин внутривенно), произошла остановка сердца. Реанимационные мероприятия не увенчались успехом, смерть наступила в 5:57. Посмертный диагноз: первичная лёгочная чума. Культура была идентифицирована спустя два дня, антитела к капсульному антигену обнаружены прижизненно (также обнаружены у золовки и двух пациентов, которым переливали кровь в той же палате, – все без клинических проявлений). У пациента был 151 контакт, включая 63 близких. Все они получили профи-*

[1] Ge P., Xi J., et al. *Primary case of human pneumonic plague occurring in a Himalayan marmot natural focus area Gansu Province, China.* Int J Infect Dis. 2015; 33:67–70; DOI: 10.1016/j.ijid.2014.12.044.

лактическую антибиотикотерапию, смертельных исходов не было. У 5 собак также были обнаружены антитела к FI (капсульному антигену) без клинических проявлений, все они подвергнуты эвтаназии.

Другой случай произошёл также в Китае, на территории Цинхай-Тибетского очага чумы.

10 декабря 2017 года[1] *у 45-летнего пастуха разболелось плечо, поэтому он принял обезболивающее. На следующий день боль стала настолько невыносимой, что пастух обратился в больницу (на дорогу ушло около 7 часов), где во время обследования были установлены высокая температура (39,5°C), лёгкий цианоз (т. е. синюшность кожного покрова), опухоль подмышечных лимфатических узлов и более 5 ран длиной 2–8 мм на правой руке. Респираторные симптомы отсутствовали. У него заподозрили чуму (подтверждена лабораторно 12 декабря). Начата антибиотикотерапия (левофлоксацин). 12 декабря в 07:20 у больного появились симптомы септического шока, такие как спутанность сознания и усиление пурпуры (т. е. мелкопятнистых высыпаний пурпурного цвета на коже и слизистых оболочках, обусловленные капиллярными кровоизлияниями), которые прогрессировали до вторичной септической формы чумы. В 11:00 случился шок, а в 14:48 наступила смерть. Данные эпидемиологического расследования установили, что пациент снимал шкуру и употреблял в пищу гималайского сурка, находящегося в зимней спячке. Скорее всего, заражение произошло через контакт ран с заражёнными жидкостью и тканями сурка, поскольку мясо тщательно приготавливалось. Этот случай стал первым для Китая, когда человек заразился от сурка, находящегося в зимней спячке. Напомним, что во время зимней спячки тело носителя охлаждается, и хотя в этом случае бактерия не «прогрета», она, как мы помним, имеет 4-ацильный ЛПС (как и в теле живого носителя), что помогает ей избегать иммунитет организма человека.*

[1] Xi J., Duan R., et al. *First Case Report of Human Plague Caused by Excavation, Skinning, and Eating of a Hibernating Marmot (Marmota himalayana).* Front Public Health. 2022; 10:910872; DOI: 10.3389/fpubh.2022.910872.

Примечательно, что из 10 близких контактных лиц у одного (тоже пастуха) были обнаружены антитела к капсульному антигену, и поскольку клинические проявления отсутствовали, ему поставили диагноз «бессимптомная форма чумы». Этот пастух долго отрицал факт употребления в пищу сурка, но когда антитела были обнаружены у его собак (которым скармливались внутренности), он признался, боясь судебного преследования.

Ещё один случай произошёл в городе Альбуке́рке (штат Нью-Мексико, США).

В понедельник, 11 ноября 1974 года[1] *62-летняя женщина проснулась от сильной головной боли, к которой в скором времени присоединились озноб, лихорадка и тошнота. На следующий день появились боль в плече и, некоторое время спустя, спине. Обследование в больнице установило высокую температуру (38,5°C), увеличение (3 x 3 см) и болезненность эпитрохлеарного (т. е. локтевого) лимфатического узла на правой руке, при этом чистые лёгкие и отсутствие болезненности рёберно-позвоночного угла. Укусов насекомых, порезов и ссадин на руках не обнаружено. Поскольку в анамнезе пациентки имелся рецидивирующий пиелонефрит (т. е. воспалительное заболевание почек инфекционного происхождения), осложнённый септицемией, в качестве предварительного диагноза поставлен грамотрицательный сепсис. Были взяты образцы крови, и начата антибиотикотерапия (ампициллин внутривенно). К 14 ноября лихорадка спала, но сохранялись головная боль, недомогание и болезненность в лимфатическом узле. 15 ноября из образца крови была выделена грамотрицательная палочка, которая 17 ноября была идентифицирована как Y. pestis. После изменения траектории лечения (стрептомицин внутримышечно и тетрациклин перорально), пациентка пошла на поправку и выздоровела без осложнений.*

Незадолго до заболевания, с 8 по 10 ноября, пациентка (и ещё 6 человек) проживали в кемпинговом лагере на территории Национального леса Карсон (Carson National Forest), округ Рио-Арриба

[1] Von Reyn C. F., Barnes A. M., et al. *Bubonic plague from exposure to a rabbit: a documented case, and a review of rabbit-associated plague cases in the United States.* Am J Epidemiol. 1976; 104(1):81–87; DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a112276.

(штат Нью-Мексико, США). Её спутники охотились на оленей и кроликов, поэтому 9 и 10 ноября она освежевала двух пойманных кроликов Нуттала[1] (Sylvilagus nuttallii) без перчаток кухонным ножом, сохранив мясо в морозильной камере (кролики были покрыты блохами, однако укусов людей не было). Анализ костного мозга из нижних конечностей кроликов, извлечённых из морозильной камеры 18 ноября (после выздоровления пациентки), был положительным на Y. pestis. Примечательно, что участники охоты, которые непосредственно ловили кроликов, но не разделывали тушки, инфицированы не были.

Приведённый случай не является единственным, но он (и подобные ему; Табл. 16.1, Рис. 16.1) значительно отличается от приводимых ранее. Во-первых, источником заражения стало животное, являющееся второстепенным носителем (по классификации Бориса Константиновича Фенюка). При этом собственные блохи оказались также инфицированными. Во-вторых, инфекционный процесс затрагивает исключительно лимфатические узлы, дренирующие верхние конечности, протекая без поражения лёгких. Наконец, в-третьих, все известные случаи произошли в холодное время года (преимущественно, зимой), то есть в межэпизоотический период, когда основные носители находятся в зимней спячке[2]. Всё это указывает на эпидемиологическую значимость представителей семейства зайцевые (*Leporidae spp.*) в качестве «внеочаговых» носителей чумы.

Алиментарный путь передачи инфекции реализуется при употреблении в пищу термически не обработанного инфицированного мяса, хотя имеются сообщения о заражении при употреблении в пищу и приготовленного мяса. Как и в случае реализации контактного механизма, важно понимать, что поскольку заражающим объектом чаще всего является инфицированный носитель, то бактерия попадает в человека уже «прогретой». Вместе с тем, как мы помним, чумной микроб утратил способность к синтезу адгезина YadA, который обеспечивает прикрепление бактерий к энтероцитам и их

[1] Вид назван в честь английского ботаника и зоолога Томаса Наттолла (1786–1859); лат. название «*nuttallii*» образовано от англ. фамилии учёного Nuttall.

[2] Из этого также следует, что во время эпизоотий данное животное не вовлечено в эпизоотический процесс.

транслокацию через М-клетки слизистой оболочки кишечника, поэтому, несмотря на поражения органов пищеварения, которые в

Табл. 16.1. Случаи реализации контактного механизма при заражении чумой

Случай	**Дата, место Пол, возраст Источник**	**Инкуб. период(дней)**	**Поражённый лимфатический узел**	**Исход**
1	Январь 1950 (Lea). Мужчина, 27 лет. Подстрелил и освежевал 6 кроликов.	3	подмышечный	жив
2	Январь 1951 (Lea). Мужчина, 51 год. Подстрелил и освежевал 8 кроликов.	4	подмышечный	летальный
3	Февраль 1960 (Cha). Мужчина, 23 года. Мужчина, 24 года. Подстрелили и освежевали 9 (10) степных кроликов (*Sylvilagus audubonii*)*.	6 4	подмышечный	жив
4	Декабрь 1963 (Apa). Мужчина, 28 лет. Подстрелил и освежевал кролика, скормил его собакам.	2–3	подмышечный	летальный
5	Ноябрь 1968 (Lem). Мужчина, 32 года. Убил камнем американского беляка (*Lepus americanus*), снял его кожу.	3	подмышечный	летальный

Продолжение Табл. 16.1.

Слу-чай	Дата, место Пол, возраст Источник	Инкуб. период(дней)	Поражённый лимфатический узел	Исход
6	Ноябрь 1970 (Wall). Мужчина, 49 лет. Подстрелил зайца, освежевал, выпотрошил и съел его.	2	подмышечный	летальный
7	Ноябрь 1974 (Rio). Женщина, 62 года. Освежевала и выпотрошила 2 кроликов Нуттала (*Sylvilagus nuttallii*).	1–2	Эпитрохлеарный	жива

Примечание:
Lea – округ Ли, штат Нью-Мексико (США),
Cha – округ Чавес, штат Нью-Мексико (США),
Apa – округ Апаче, штат Аризона (США),
Lem – округ Лемхай, штат Айдахо (США),
Wall – округ Уаллауа, штат Орегон (США),
Rio – округ Рио-Арриба, штат Нью-Мексико (США).
* у пациента имелись множественные открытые ссадины на руках



Рис. 16.1. Карта мест контактного заражения людей (красной линией условно обозначена граница природных очагов)

отдельных случаях могут быть весьма значительными, говорить о существовании «кишечной» формы чумы не приходится. Как верно указывает[1] Владимир Николаевич Лобанов[2], «большинством исследователей признаётся, что при наличии резко выраженных клинических симптомов со стороны кишечно-желудочного тракта и анатомических изменений в нём[3] речь идёт о генерализованной чуме».

Имеющиеся сообщения о заражении инфицированным мясом указывают на разнообразие клинических форм. Так, при употреблении в пищу мяса верблюда сообщается о фарингите (12 человек из деревни Азрак-ад-Друз, Иордания, февраль 1997 года[4]), тяжёлом фарингите с подчелюстным лимфаденитом (4 человека из города Гориат, Саудовская Аравия, февраль 1994 года[5]) и гастроэнтерите (83 человека из провинции Нимроз, Афганистан, декабрь 2007 года[6]). Похожие проявления часто обнаруживаются и при употреблении в пищу мяса сурка. В этой связи будет уместным подробнее рассмотреть следующий случай.

28 апреля 2019 года[7] 38-летний казах, проживающий на западе Монголии, в аймаке (провинции) Баян-Улгий, обратился в скорую помощь, имея жалобы на лихорадку, боли в животе и кровавую рвоту. Вскоре после звонка, до приезда скорой помощи, он умер. Посмертное вскрытие обнаружило увеличение желудка, пищевода, печени, почек и лёгких, их наполнение кровью и признаки воспаления без увеличения лимфатических узлов. Чумной микроб был обнаружен в крови, печени, селезёнке, лёгких, почках, желудке, головном и костном мозге. Известно, что 22 и 25 апреля он охотился

---

[1] Лобанов В. Н. *Патологическая анатомия и патогенез чумы у человека*, М.: Гос. изд. мед. лит. «Медгиз», 1956, 176 с.

[2] 1907–1991; советский (российский) врач, бактериолог, патологоанатом, заслуженный деятель науки РСФСР. Один из ведущих советских специалистов в области патологии и патологической анатомии чумы.

[3] Речь о них шла в Главе 11.

[4] Arbaji A., Kharabsheh S., et al. *A 12-case outbreak of pharyngeal plague following the consumption of camel meat, in north-eastern Jordan.* Ann Trop Med Parasitol. 2005; 99(8):789–793; DOI: 10.1197/13648590X65161.

[5] Bin Saeed A. A., Al-Hamdan N. A., et al. *Plague from eating raw camel liver.* Emerg Infect Dis. 2005; 11(9):1456–1457; DOI: 10.3201/eid1109.050081.

[6] Leslie T., Whitehouse C. A., et al. *Outbreak of gastroenteritis caused by Yersinia pestis in Afghanistan.* Epidemiol Infect. 2011; 139(5):728–735; DOI: 10.1017/S0950268810001791.

[7] Kehrmann J., Popp W., et al. *Two fatal cases of plague after consumption of raw marmot organs.* Emerg Microbes Infect. 2020; 9(1):1878–1880; DOI: 10.1080/22221751.2020.1807412.

на сурков и в этот период вместе с 37-летней женой употреблял в пищу их сырые органы (почки, желудок и желчный пузырь). Год назад был вакцинирован вакциной живой сухой на основе вакцинного штамма Y. pestis EV76. Жена в это время навещала друзей, но уже в период с 26 по 28 апреля посещала врача по поводу лихорадки, диареи, болей в животе, рвоты и головной боли. Лечение осуществлялось амбулаторно (эритромицин и противовоспалительные препараты) ввиду отказа пациентки от госпитализации. После смерти мужа её госпитализировали с воспалением глотки и шейным лимфаденитом (подозрение на чуму). Несмотря на лечение (гентамицин и цефтриаксон внутривенно), 1 мая она умерла. Чумной микроб был обнаружен в образцах шейного лимфатического узла, крови и кишечнике, а также мазках из зева. Среди контактных 124 человек (все получили экстренную антибиотикотерапию) случаев инфицирования зарегистрировано не было. У супругов осталось четверо детей в возрасте от 9 месяцев до 12 лет…

Со склона горы Аракура́ открывается чудесный вид на долину вишнёвых деревьев, лишь на несколько дней в году облекающихся в нежно-розовые цветы. Они, словно чистые души, лишь на мгновенье дарят миру свою вечную красоту и, повинуясь слабому дуновению ветра, воспаряют к облакам, над которыми вдалеке виднеется несравненная вершина Фу́дзи[1]. Печально очарованный видением[2], на том же склоне стоит человек. Он смотрит то ли вдаль на вершину Фудзи, желая увидеть неземную красоту её хозяйки, в чьи нежные руки стремится попасть каждый воспаривший лепесток, то ли

[1] Гора (стратовулкан) в Японии, почитается как синтай (тело божества) ками Коноханаса́куя-химэ́, являющейся символом мимолётности жизни (её символ – цветок сакуры). Расположена в точке соприкосновения Евразийской, Филиппинской и Охотской литосферных плит. Современное японское название Фу́дзиса́н (富士山) по одной из версий произошло от яп. 不二 («несравненный»).

[2] Отсылка к эстетическому принципу мо́но-но аварэ́, что означает «печальное очарование вещами». Это глубокое эмоциональное чувство, выражающееся в стремлении к бесконечности через меланхоличное познание ужаса вещей, тоскливое их созерцание, осознание непостоянства и быстротечности мира, но при этом жизнеутверждающая и светлая чувствительность к эфемерному. Моно-но аварэ – это счастье от созерцания цветения вишни (сакуры) и грусть от понимания её неминуемого увядания. Каждый лепесток её цветка – это символ скоротечности жизни.

на рядом стоящую пагоду, построенную для того, чтобы в мире больше не было войн. Погрузившись в мысли, он не замечает, как на плечо, совершив пару изящных поворотов, медленно опустился лепесток…

17 КЛИНИКА

В предыдущих главах мы подробно рассматривали, что происходит с организмом человека при заражении чумным микробом. Это, можно сказать, был взгляд изнутри. Теперь настало время поговорить о том, что происходит снаружи, то есть о клинической картине.

Инкубационный период длится 2–3 дня, крайне редко может длиться 6 дней[1]. При первичной лёгочной форме, как уже говорили ранее, инкубационный период составляет всего 1–2 дня, а при высоких дозах аэрозольного заражения (например, при аварии во время работы с возбудителем) может сокращаться до нескольких часов[2].

Вид с горы Аракура ►

[1] Именно по этой причине период обсервации контактных лиц, а также тех, кто работал с возбудителем чумы, составляет 6 дней. Следует учесть, что крайне редко инкубационный период может длиться дольше (например, у вакцинированных он может быть 10 дней), поэтому ещё в начале прошлого столетия Китасато Сибасабуро настаивал, что обсервация должна длиться не менее 10 дней.

[2] Российский и советский врач Евгений Сергеевич Касто́рский (1870–1938) сообщает об особенностях клинической картины во время эпидемии в Маньчжурии (1920–1921), заключающихся в быстроте течения и отсутствии явно выраженной локализации процесса, что приводило к смертельным исходам уже в первый день заболевания, хотя выслушивание больного не подтверждало каких-либо патологических процессов в лёгких, на которые указывала лишь «ржавая» мокрота.



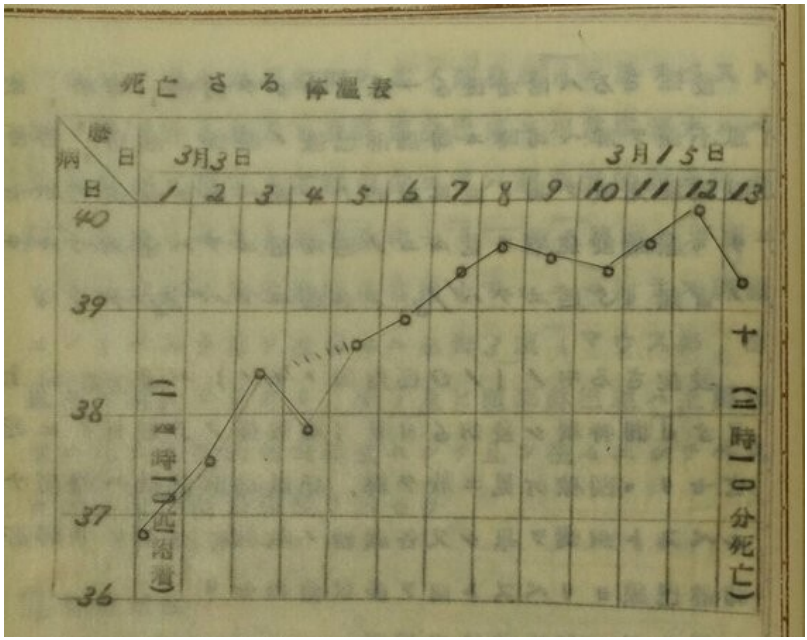


Рис. 17.1. *График изменения температуры тела человека, заражённого чумой, выполненный сотрудниками отряда 731*
(видно резкое повышение температуры на второй день после заражения)

При трансмиссивном заражении начало заболевания всегда острое, хотя ему может предшествовать продромальный период (т. е. период между инкубационным и самой болезнью), проявляющийся «гриппоподобными» симптомами. Среди них отдельно выделим *озноб*, который может длиться полчаса-час, исчезая и возникая снова, поскольку он является предвестником тяжёлого течения болезни. Могут быть боль в крестцовой области, мышцах и суставах, а также чувство беспокойства, нервозность и даже депрессия.

Температура нарастает быстро (Рис. 17.1). Важным клиническим проявлением чумы вне зависимости от формы является *синдром интоксикации*, который и определяет тяжесть течения болезни и её исход. Александр Йерсен писал: «Токсин чумы существует!»

Синдром интоксикации закономерно влияет на внешний вид больного: вначале имеются гиперемия, одутловатость лица, изменения глаз (они «налиты кровью», возможны слезотечение и даже

светобоязнь). На лице возможно выражение страдания или ужаса. Оно опухшее, маскообразное, красноватого цвета. Эмоции отсутствуют. Кожа сухая и горячая. Губы сухие. Язык часто тоже сухой, но утолщён и обложен белым густым налётом (так называемый «меловой язык»), который сохраняется некоторые время, а при тяжёлом течении болезни темнеет до тёмно-коричневого цвета. Речь становится невнятной, слух нарушен, глаза стекленеют, а в ряде случаев появляется головокружение, что создаёт впечатление алкогольного или наркотического опьянения. Сообщается[1], что однажды врач отказал пациенту в госпитализации, подумав, что тот злоупотребил спиртным. Позже человека нашли мёртвым на скамейке рядом с больницей, а патологоанатомическое вскрытие подтвердило страшный диагноз.

К перечисленному добавляется сильная головная боль (по времени совпадает с началом повышения температуры), к которой нередко присовокупляется так называемая *головная болезнь* («чумка»), выраженная психомоторным возбуждением. Больные беспокойны, чрезмерно активны, размахивают руками, пытаются бежать, но походка у них шаткая. Возможны помрачение сознания, галлюцинации и бред. Известны случаи, когда больные в бреду покидали кровать и смерть заставала их в разнообразных положениях и позах. Ати́лио Макиаве́лло[2] сообщает[3], что бред и оцепенение характерны для больных в Индии и Китае, тогда как у больных в Африке и Южной Америке этот симптом отсутствует. Все эти характерные симптомы привели к появлению в народе поговорки «Что ты как очумелый».

Иногда больные испытывают жгучую боль в верхней и нижней частях живота, которая не купируется обильным питьём холодной

---

[1] Nikiforov V. V., Gao H., et al. *Plague: clinics, diagnosis and treatment*. Adv Exp Med Biol. 2016; 918:293–312; DOI: 10.1007/978-94-024-0890-4_11.

[2] Atilio Macchiavello, 1902–1996; чилийский врач итальянского происхождения, гигиенист, эпидемиолог. Описал большое количество новых носителей и переносчиков чумы, сообщил о первом смешанном случае чумы и псевдотуберкулёза, разработал способ окраски хламидий и риккетсий. Первым предложил использовать инсектицид ДДТ (DDT; 1,1,1-трихлор-2,2-бис(4-хлорфенил)этан) для борьбы с переносчиками чумы.

[3] Macchiavello A. *Plague*, in *Clinical tropical medicine (Gradwohl R. B. H., Benitez S. L., et al.)*, St. Louis, 1951. P. 41.

воды (больные испытывают жажду). Боль может распространиться на всё тело.

Со стороны сердечно-сосудистой системы отмечаются тахикардия, аритмия и снижение артериального давления. Возможно появление тахипноэ (т. е. учащённого неглубокого дыхания), олигурии (т. е. уменьшения количества выделяемой мочи) или анурии (т. е. полное отсутствие мочи или её снижение до 100 мл в сутки). Несмотря на всё перечисленное, внешне больные похожи на больных брюшным тифом, поэтому на данном этапе чуму возможно заподозрить только на основании *эпидемиологического анамнеза*.

По мере прогрессирования заболевания возможно поражение кожи, выраженное первичным аффектом в месте укуса, а также иногда мелкой сыпью в непосредственной близости от него, что указывает на *кожную форму* заболевания. Наличие кожных проявлений в месте укуса, как правило, незначительных, является важным диагностическим признаком. Вначале на коже появляется небольшое болезненное малиновое пятнышко, больше похожее на укус насекомого. В следующие сутки кожа затвердевает и поражённый участок увеличивается в размерах, несколько возвышаясь над уровнем кожных покровов (папула). В центре папулы развивается небольшой пузырь с геморрагическим содержимым (фликтена), что сопровождается усилением боли. Далее оболочка фликтены разрывается (язва), её края отекают, переходя из розово-красного в синюшный оттенок. Язва глубоко внедряется в кожу и покрывается сверху тёмным струпом (карбункул). Карбункул (Рис. 17.2), как правило, появляется до второго дня заболевания и может составлять 2–5 см в диаметре. По его краям возможно образование новых везикул, ввиду чего чумные карбункулы можно спутать с сибиреязвенными (ткани, прилегающие к сибиреязвенным карбункулам, как правило, пастозные (т. е. бледные и неэластичные), тогда как прилегающие к чумным – плотные).

За счёт гематогенной диссеминации возбудителя карбункулы могут появляться в значительной удалённости от входных ворот (вторичные карбункулы), но несколько позже первичного карбункула. Однако наличие нескольких первичных карбункулов свидетельствует о множественных последовательных укусах.



Рис. 17.2. *Пациент, на ноге которого виден карбункул (изображение из коллекции Dr. Karl Friedrich Meyer, 1937)*

Заживление карбункулов происходит медленно и начинается с появления струпа и чёткой демаркационной линии (т. е. линии ограничения), по которой выделяется гной. При отделении струпа на коже остаются грубые рубцы.

Как правило, карбункул появляется чуть раньше бубона или одновременно с ним[1]. *Бубонная форма* заболевания знаменуется болезненной чувствительностью той области кожи, под которой располагаются ближайшие к месту входных ворот лимфатические узлы (как правило, это паховые, подмышечные, шейные или подчелюстные[2]), поэтому определяется уже в первые часы заболевания. Боль может быть настолько сильной, что пациентам становятся затруднительными движения в этой области, поэтому они часто принимают неестественные позы (приподнятая голова, отведённая рука или нога и т. д.). Через некоторое время один-два лимфатических узла воспаляются (лимфаденит; пальпируется в виде бугори-

[1] Тут следует отметить, что в случае наличия карбункула без бубона говорят о *кожной форме*, в случае наличия бубона без карбункула – о *бубонной форме*, а в случае наличия карбункула и бубона – *кожно-бубонной форме*.

[2] Паховые лимфатические узлы поражаются в 50% случаев, подмышечные – в 20%, шейные – в 5%. Подчелюстные поражаются редко, подколенные и локтевые – ещё реже. В единичных случаях возможно поражение лимфатических узлов иной локализации. Высокая частота поражения паховых лимфатических узлов объясняется, во-первых, высокой вероятностью укусов переносчиками ног, а, во-вторых, большим количеством лимфы (по сравнению с другими дренирующими лимфатическими узлами), собираемой в этих узлах из-за значительной поверхности кожи.



Рис. 17.3. *Правый паховый бубон у девочки из Вьетнама (1965)*



Рис. 17.4. *Левый подмышечный бубон у девочки из Вьетнама (1965)*



Рис. 17.5. *Правый подчелюстной бубон и опухоль в области правой щеки у мальчика из Вьетнама (1965)*

стостей) и образуют конгломерат. Воспаление затрагивает кожу (периаденит), и конгломерат с ней сливается (бубон, Рис. 17.3–17.6). Всё указанное сопровождается сильной болью и уже невозможностью пальпаторно определить границы бубона (Рис. 17.7), который в период своего наибольшего развития может достигать размеров с куриное яйцо. Именно по этой причине Китасато Сибасабуро отказался выделять культуру из пунктата бубона, а некоторые специалисты отмечают, что процесс забора материала может быть затруднительным из-за рефлекторных движений пациента. В подавляющем большинстве случаев формируется один бубон, однако бывают исключения, и самое редкое из них – одновременное формирование бубонов в паху, подмышечной впадине и шее. Общее состояние пациентов зависит от локализации бубона: оно прогрессивно ухудшается по мере приближения бубона к голове.



Рис. 17.6. *Правый подчелюстной бубон у мужчины с местом «прорыва», из которого сочится гной (1993)*

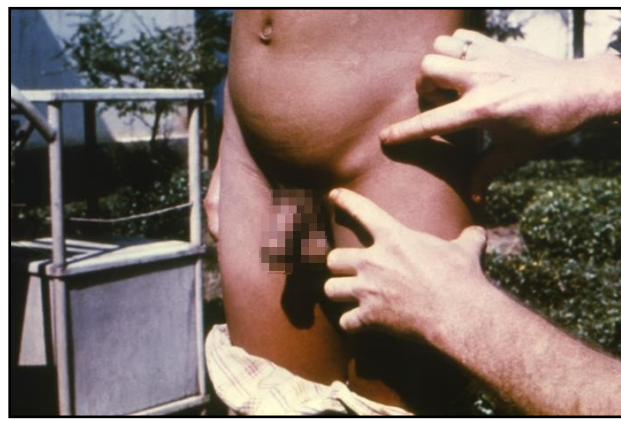


Рис. 17.7. *Левый паховый бубон у мужчины из Вьетнама (1965). Врач пальпирует границы бубона, которые не определяются визуально из-за периаденита. В настоящее время проведение подобной манипуляции без перчаток является грубым нарушением правил биологической безопасности, однако в середине прошлого века такая практика была нормой*

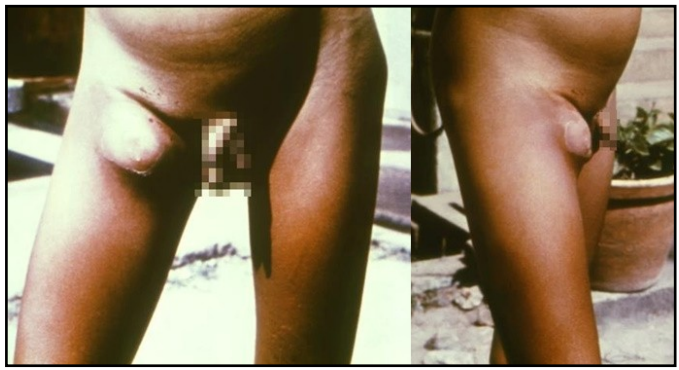


Рис. 17.8. *Крупный правый паховый бубон у мальчика из Вьетнама (1965), вид спереди и сбоку. Обратите внимание, как отслоилась кожа, покрывающая бубон, из-за сильного отёка*

На значительное расстояние от бубона может распространяться отёк, который отчётливо обнаруживается при надавливании (после снятия руки место вдавления сохраняется). Локализация бубона в подмышечной впадине у женщин может привести к распространению отёка на область молочной железы (при пальпации обнаруживается некоторое дрожание) и лопатки.

Через некоторое время (примерно на 5–6 день) наступает пик заболевания. Лихорадка сохраняется на уровне 40°C (на Рис. 17.1 можно видеть, что пик пришёлся на 8 день). Симптомы интоксикации достигают своего максимума. Лицо искажается, возможно выражение тревоги и ужаса. Артериальное давление снижается, тоны сердца глухие, обнаруживается выраженная тахикардия. Печень и селезёнка увеличиваются, что говорит о прорыве бубона и бактериемии.

Бубоны не исчезают бесследно: они рубцуются или склерозируются. В первом случае кожа над бубоном краснеет и приобретает синевато-бурый оттенок, истончается и некротизируется. Верхний её слой может отслоиться (Рис. 17.8). Боль постепенно спадает, и к 8–10 дню в одном или нескольких местах образуются отверстия (иногда бубон лопается), из которых выделяются массы желто-зелёного гноя (Рис. 17.6), иногда с примесью крови, но без резкого

запаха[1]. Дно и края образовавшейся гнойной полости постепенно заполняются молодой соединительной тканью (грануляциями), а примерно через 3–4 недели место бубона превращается в грубый глубокий рубец. Во втором случае бубон медленно уменьшается, но на его месте ещё долго пальпируется уплотнение.

Вторичные бубоны, возникающие вследствие заноса бактерий в другие лимфатические узлы, значительно меньше в размерах, менее болезненны и проходят без нагноения. В единичных случаях возможно поражение периферических лимфатических сосудов (лимфангит).

Выход возбудителя из печени и селезёнки приводит к септицемии и генерализации инфекционного процесса. Значительно повышается концентрация печёночных ферментов, уменьшается количество эритроцитов (как следствие, снижается содержание гемоглобина). Появляются рвота, реже – тошнота и диарея (иногда со слизью). Желудочно-кишечные симптомы возникают у половины пациентов и в некоторых случаях могут стать доминирующими симптомами (именно поэтому иногда выделяют кишечные формы, что является ошибкой, поскольку «кишечная» симптоматика никогда не является самостоятельной). Нередко из фекалий можно выделить чумной микроб.

Увеличивающаяся интоксикация переходит в инфекционно-токсический шок, который играет решающую роль в развитии инфекционного процесса. В ответ на действие токсинов возможно развитие парааллергических процессов – генерализованной реакции, именуемой феномен Санарелли – Шварцмана (Рис. 17.9)[2]. Заключается данный феномен в возникновении локализованного или

[1] Напомним, что во время эпидемии чумы в Венеции (Глава 1) врачи часто заражались при вскрытии бубона, поскольку большое количество «подготовленных» бактерий в виде аэрозоля попадало в воздух. В случае же естественного вскрытия бубона, напротив, эпидемиологический риск минимален, поскольку большая часть бактерий уже устремилась в кровь, а бактерии из гноя не выделяются уже на вторые сутки (чего не скажешь о рвотных массах при лёгочной форме).

[2] Назван в честь итальянского врача Джузеппе Санарелли (1864–1940) и украинского врача Григория Шварцмана (1896–1965), получившего образование в эмиграции в Брюссельском университете (за границей известен как Грегори). Джузеппе Санарелли первым описал эндотоксиновый шок, когда на месте введения бактериальной культуры развивалась избыточная чувствительность, приводящая к геморра-

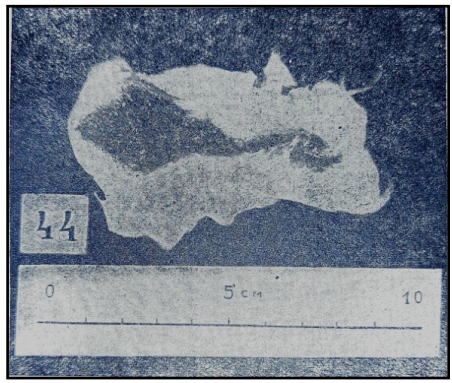


Рис. 17.9. *Феномен Санарелли – Шварцмана (модель кролика), выраженный некрозом, распространившимся по ходу крупной вены. В данном опыте (№ 44) кролику была введена культура Y. pestis подкожно и внутривенно на расстоянии 8 см. Через час в месте подкожной инъекции образовалось геммoрагическое пятно, а вена сильно набухла. Через 3 часа вокруг вены начала развиваться геморрагия, в которую быстро вовлеклось место подкожной инъекции. Через 2 дня вся область, захваченная геморрагией, начала некротизироваться, что через 6 дней привело к разрушению окружающей вену клетчатки и её обнажению. Ещё через 2 дня вена окончательно некротизировалась и вместе со всей областью отпала, оставив после себя рубец (по Жуков-Вережников Н. Н., 1940)*

генерализованного (как в нашем случае) геморрагического воспаления из-за чрезмерной иммунной реакции на токсин, которое приводит к тромбозу мелких сосудов и затем некрозу тканей органов. По сути речь идёт о частном случае системного воспалительного ответа (ДВС-синдроме).

Нарастает тахикардия и тахипноэ, но артериальное давление снижается (в случае выздоровления к нормальным цифрам оно приходит медленно). Нередко развивается анурия. Возможны носовые и желудочные кровотечения. Развиваются множественные тёмно-синие кровоизлияния (синяки) на коже и слизистой, переходящие в некроз. Развивается полиорганная недостаточность.

Вовлечение лёгких в инфекционный процесс знаменует начало *вторичной лёгочной формы* заболевания, которая развивается в 8–10% случаев. Появляются кашель и боль в грудной клетке при дыхании (развивается плеврит[1]). Может появиться боль в боку. Иногда температура тела снова

гиям (т. е. кровоизлияниям) и некротической сыпи. Номинант Нобелевской премии (26 раз). Григорий Шварцман развил его идеи, показав, что аналогичный эффект возможен при введении не бактериальной культуры, а бактериальных токсинов.

[1] Напомним: воспаление плевральных листков с отложением на них фибрина (сухой плеврит) или скоплением жидкости (экссудата) в плевральной полости (экссудативный плеврит).

поднимается до 39–40°С. Важно отметить, что боль в груди и головная боль являются важными симптомами, поэтому их отсутствие делает диагноз «чума» маловероятным. Редко может наблюдаться сухой кашель. Вначале отделяется скудная стекловидная мокрота. Через несколько дней она станет кровянистой и её количество увеличится. При обследовании выявляется крупозная пневмония[1] с локализацией очагов преимущественно в средней доле правого лёгкого и верхних долях обоих лёгких. Отсутствие очагов в нижних долях служит своеобразным маркером, указывающим на гематогенное проникновение возбудителя, характерное при чуме.

Незадолго до смерти лица пациентов приобретают характерный синюшный оттенок с выражением страдания, которое именуют *facie pestica* (лат. «чумное лицо»). Черты лица становятся резкими, на лбу проступают обильные капли пота («роса смерти»). Многие пытаются сбежать домой, где умирают, свернувшись калачиком.

Важно понимать, что тяжесть протекания инфекционного процесса неодинакова. И хотя в отсутствие лечения вероятность смерти достаточно высока, в ряде случаев клинические симптомы могут отсутствовать (*бессимптомная форма*) или проявляться относительно легко (*амбулаторная форма*).

18 КЛИНИКА ПЕРВИЧНОЙ СЕПТИЧЕСКОЙ ЧУМЫ

В 2008 году[2] 79-летняя женщина, проживающая в сельском горном районе штата Калифорния (США), была госпитализирована в местную больницу с замутнённым сознанием после того, как её нашла соседка. Известно, что в последние месяцы она страдала от сильной боли в пояснице из-за остеохондроза, ввиду чего не встава-

[1] Вспомним, что у Абрама Львовича Берлина крупозная пневмония была диагностирована при первичной лёгочной форме.

[2] Margolis D. A., Burns J., et al. *Case Report: Septicemic Plague in a Community Hospital in California*. Am J Trop Med Hyg. 2008; 78(6):868–871.

ла с постели и не могла поддерживать дом в чистоте, который повсюду содержал следы экскрементов оленьих (Peromyscus maniculatus) и лесных хомячков (род Neotoma)[1].

При поступлении в отделение неотложной помощи у пожилой женщины отмечалась температура 38,2 °С, частота сердечных сокращений (ЧСС) 110 уд/мин, артериальное давление 121/60 mmHg, сатурация 80% (дышит самостоятельно). Пациентка возбудима, но ориентирована только на человека. Аускультативно выявлены лёгкие хрипы в нижних отделах лёгких слева. Воспаления подмышечных и паховых лимфатических узлов не выявлено. Живот плоский и мягкий, безболезненный, стул нормальный. Обнаружены лейкоцитоз (лейкоциты 46,86 х 10^9/л при норме 3,98–10,4 х 10^9/л) [2] *, почечная дисфункция (креатинин сыворотки 168 мкмоль/л при норме 44–80 мкмоль/л) и повышение ферментов печени (аспартатаминотрансфераза 336 ед/л при норме <40 ед/л; аланинаминотрансаминаза 59 ед/л при норме <40 ед/л). На рентгенограмме органов грудной клетки обнаружен ателектаз (т. е. спадение лёгочной ткани с потерей объёма лёгкого) нижней части левого лёгкого.*

Пациентке был поставлен диагноз «внебольничная пневмония» и начата антибиотикотерапия (цефтриаксон с последующим введением ампициллина + сульбактама и левофлоксацина). Лихорадка снизилась и улучшились когнитивные функции. Однако через 48 часов после поступления усугубилась почечная недостаточность (креатинин сыворотки 371,3 мкмоль/л при норме 44–80 мкмоль/л), развились ацидоз и тромбоцитопения (тромбоциты 54 х 10^9 кл/л, норма 150–400 х 10^9 кл/л). На третий день она была переведена в академическую больницу Калифорнийского университета в Сан-Диего, где ей в скором времени потребовались интубация и гемодинамическая поддержка. Посев крови при поступлении был отрицательный. Была повышена концентрация лактатдегидрогеназы (3296 ед/л при норме 13–220 ед/л). В мазке крови определено умеренное количество шистоцитов (т. е. фрагментов эрит-

[1] Типичные носители для данного региона, эндемичного по чуме.

[2] Важный маркер чумной инфекции, поскольку выраженный лейкоцитоз не характерен для инфекционных патологий.

роцитов), протромбиновое время[1] *было увеличено в 1,2 раза, а частичное тромбопластиновое время*[2] *– в 1,3 раза. На основании клинической картины и лабораторных данных был поставлен новый диагноз – «тромботическая тромбоцитопеническая пурпура»*[3]*. Начаты плазмаферез и плазмообмен*[4]*.*

На груди и верхних конечностях (Рис. 18.1-A) обнаружено несколько областей некроза с окружающей эритемой, а на пальцах ног (Рис. 18.1-B) – гангрена. Гистологическое исследование (Рис. 18.1-C,D) показало некроз кожи, острое воспаление и тромбоз мелких сосудов. На компьютерной томографии брюшной полости (Рис. 18.1-F) обнаружен двусторонний некроз коркового слоя почки, что указывает на феномен Санарелли – Шварцмана (напомним: в данном случае – генерализованную реакцию организма на эндотоксины, вызывающие тромбоз и, следовательно, некроз поражённых тканей – подозрение на бактериальную инфекцию). В это время из предыдущей больницы сообщили, что в посеве мочи обнаружена Pseudomonas aeruginosa (более 10^5 *КОЕ/мл), грамотрицательная подвижная палочка, ввиду чего схему антибиотикотерапии изменили на меропенем и гентамицин.*

На следующий день пришло сообщение, что в мазке крови обнаружена «грамположительная палочка». Нестыковка в результате вынудила лечащих врачей из академической больницы отправить запрос в предыдущую больницу, ответ на который поступил ещё через два дня, когда ответственный сотрудник вышел на работу.

---

[1] Время, за которое образуется сгусток крови после присоединения к плазме тканевого фактора (т. е. фактора свёртывания крови III). На основании этого показателя определяют международное нормализованное отношение, которое является отношением результатов протромбинового времени исследуемого образца к нормальному, возведённому в степень (международный индекс чувствительности).

[2] Это время, за которое образуется сгусток крови после присоединения к плазме химических реагентов (например, хлорида кальция). Отражает работу внутреннего пути и общего каскада свёртывающей системы крови человека.

[3] Острое скоротечное заболевание, характеризующееся неиммунологической тромбоцитопенией и микроангиопатической гемолитической анемией. Оголённые тромбоциты и фибрин, накапливаясь в мелких сосудах, повреждают проходящие тромбоциты и эритроциты, вызывая значительную механическую тромбоцитопению и анемию, а также повреждают эндотелий сосудов.

[4] Метод, при котором у пациента забирают объём плазмы, замещая его плазмозаменителями и факторами свёртывания крови.

Результат им был изменён на «грамотрицательная палочка». Указание на конкретный вид (или хотя бы род) отсутствовали, поскольку один автоматический анализатор идентифицировал культуру как Y. pestis, а другой – как E. coli или Proteus spp. Изолированная культура была передана в лабораторию академической больницы только на 7 день со дня госпитализации (в первое учреждение). Это были медленнорастущие небольшие колонии; в мазке грамотрицательные палочки, биполярно окрашивающиеся, неподвижные, не ферментирующие лактозу. Исследование первоначального мазка крови, также переданного из предыдущей больницы, выявило незначительное количество бактерий с биполярным окрашиванием (Рис. 18.1-E). Через два дня полученная культура была идентифицирована как Y. pestis (результат подтверждён в референс-цент- ре – Лаборатории общественного здравоохранения округа Сан-Диего). Диагноз: первичная септическая чума. В тот же вечер медсестре показалось (вероятно, на фоне всех этих событий), что она видела живых блох в постели пациентки, которые на деле оказались плодовыми мушками.

Пациентка получила эффективное лечение от первичной септической чумы, однако анурия, развившаяся на фоне основного заболевания, осталась. От заместительной почечной терапии она отказалась и вскоре скончалась от уремии.

Рис. 18.1. *Случай первичной септической чумы (по Margolis D. A., 2008; публикуется с разрешения The American Journal of Tropical Medicine and hygiene):* ►
A – несколько областей некроза кожи с окружающей эритемой на груди пациентки;
B – гангрена пальцев правой ноги;
C – ув. 200х, пункционная биопсия очага поражения (A); над некротизированной дермой наблюдается субэпидермальная щель с выраженной экстравазацией (т. е. проникновением из сосуда в перинадальные ткани) эритроцитов и дермальной пурпурой;
D – ув. 400х, пункционная биопсия (C), окраска трихромом; наблюдаются фибриновые тромбы в повреждённых сосудах (бактерии отсутствуют);
E – ув. 40х, мазок крови; наблюдается одна биполярно окрашенная бактерия;
F – компьютерная томография брюшной полости; наблюдается двусторонний некроз коркового слоя почки


A
B
C
D
E
F



Рис. 18.2. *Нога больного с характерной бледностью*

Первичная септическая форма чумы начинается внезапно, сопровождаясь общей слабостью, миалгиями (т. е. болью в мышцах, связках, суставах) и артралгиями (т. е. болью в суставах). Появляются сильная головная боль, головокружение, озноб, повышается температура. Через некоторое время могут присоединиться заторможенность и даже делирий (т. е. помрачение сознания). Как мы видели, именно эти симптомы были у пациентки. Также возможна рвота. Артериальное давление снижено и падает. Дыхание учащено. Важной особенностью первичной септической формы является отсутствие бубонов (напомним: септицемия развивается, минуя лимфатические узлы). Через 12–40 часов развивается почечная недостаточность, приводящая к снижению диуреза вплоть до анурии.



Рис. 18.3. *Множественные кровоизлияния на правой ноге*



Рис. 18.4. *Поражения рук у 59-летнего мужчины, заразившегося септической чумой после контакта с соседской кошкой и разодранной ею мышью*

Наступает инфекционно-токсический шок, который играет решающую роль в развитии инфекционного процесса. Нарастает тахикардия и тахипноэ, снижается артериальное давление, и нередко развивается анурия. Возможны носовые и желудочные кровотечения. Развивается ДВС-синдром и тромбоз мелких сосудов, что может приводить к бледности дистальных отделов конечностей (Рис. 18.2). Затем развиваются множественные кровоизлияния на коже и слизистой, переходящие от светло-красных (Рис. 18.3) до тёмно-синих (Рис. 18.1-A,B), и далее в некроз. Размер «пятен», именуемых «пятнами смерти», может варьироваться, достигая больших размеров (Рис. 18.4). Существует мнение, что именно из-за этих «пятен» чуму в Средневековье именовали чёрной смертью.

Тут важно заметить, что в отличие от вторичной септической формы при данной форме системные патологические процессы протекают быстрее, тогда как лёгкие практически не вовлекаются. Смерть, как правило, наступает в течение двух суток.

19 КЛИНИКА ПЕРВИЧНОЙ ЛЁГОЧНОЙ ЧУМЫ

25 октября 2019 года[1] *43-летний мужчина из префектуры Лига (автономный район Внутренняя Монголия, Китай), занимающийся разведением крупного рогатого скота, обратился в больницу Сонайт Зао-Ци (Sunite ZuoQi) с жалобами на внезапно появившуюся лихорадку, озноб, одышку и кровавую мокроту. Он сообщил, что днём ранее обрабатывал почву на ферме. На основании результатов компьютерной томографии ему был поставлен диагноз «крупозная пневмония»*[2]*, и, несмотря на антибиотикотерапию, через 2 дня улучшения не наблюдалось. Повторная компьютерная томография показала ухудшение, поэтому с подозрением на грип-*

[1] Zhou H., Guo S. *Two cases of imported pneumonic plague in Beijing, China.* Medicine (Baltimore). 2020; 99(44):e22932; DOI: 10.1097/MD.0000000000022932.

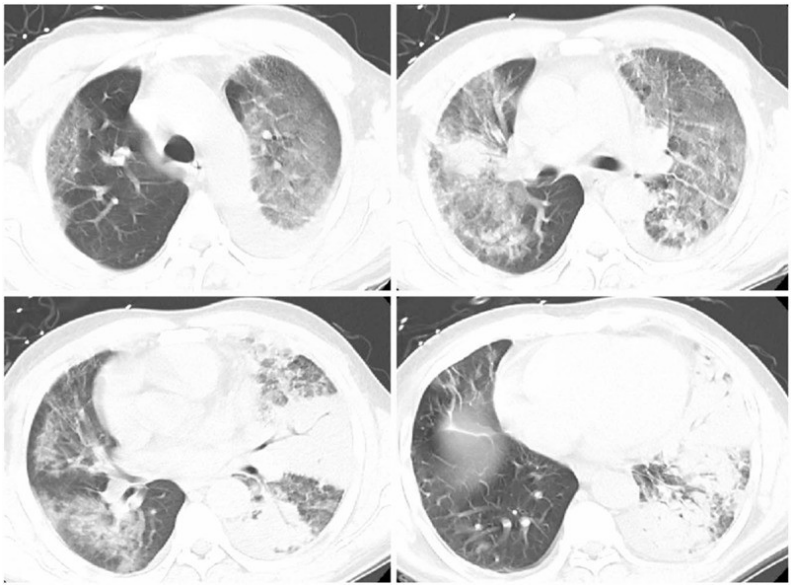
[2] Снова вспомним историю Абрама Львовича Берлина.

позную пневмонию он был переведён в отделение интенсивной терапии больницы Лиги Шилингон (Xilingol League Hospital).

46-летняя жена пациента сопровождала его и любезно ухаживала за ним, вынося его мокроту. 31 октября у неё также появились кашель, лихорадка, озноб, усталость, боль в груди и кровавая мокрота. Температура поднялась до 38°C. Компьютерная томография выявила пневмонию, поэтому она также была госпитализирована.

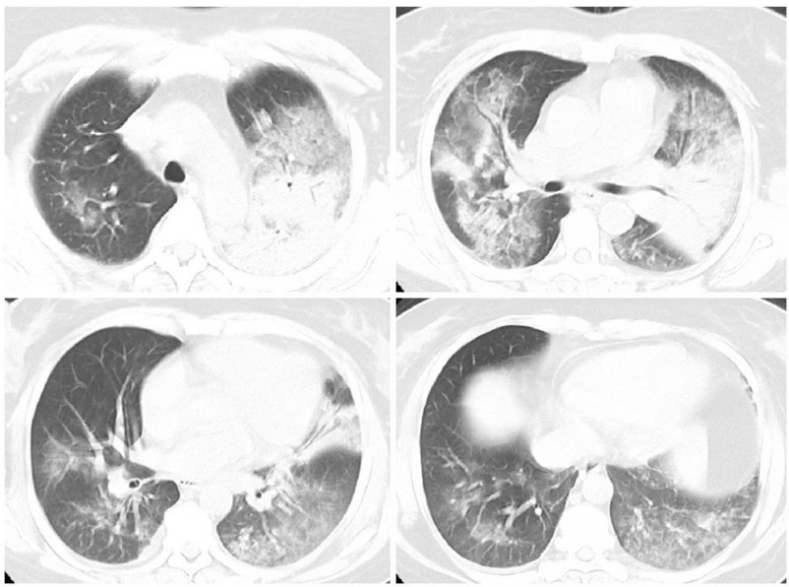
В больнице супруги пробыли до 3 ноября, и, поскольку их состояние ухудшилось (мазок из носоглотки на грипп отрицателен у обоих), они были переведены в отделение неотложной помощи Пекинской больницы Чаоян (Beijing Chaoyang Hospital). При поступлении у мужчины отмечалась температура 36,3 °C, ЧСС 74 уд/мин, частота дыхания 20 вдохов в минуту, артериальное давление 126/85 mmHg. Пациент в сознании с плохим настроением. Аускультативно выявлено жёсткое дыхание с влажными хрипами, ритм сердца правильный. Воспаления подмышечных и паховых лимфатических узлов не выявлено. Живот плоский и мягкий, безболезненный.

Обнаружены лейкоцитоз (лейкоциты 28,6 x 10^9/л при норме 4–9 x 10^9/л), нейтрофилия (нейтрофилы 26,53 x 10^9/л при норме 0,04–0,3 x 10^9/л) и моноцитоз (моноциты 0,68 x 10^9/л при норме 0,09–0,6 x 10^9/л). Биохимический анализ крови выявил нарушения функции печени: повышение концентрации альбумина (29,1 г/л при норме 35–53 г/л), аланинаминотрансферазы (80 ед/л при норме <40 ед/л), общего билирубина (22,6 мкмоль/л при норме 8,5–20,5 мкмоль/л), а также незначительное снижение концентрации креатинина (44,5 мкмоль/л при норме 62–106 мкмоль/л) и натрия (135,7 ммоль/л при норме 136–145 ммоль/л). Анализ газового состава крови выявил pO_2 69,1 mmHg (норма 90–100 mmHg), pCO_2 27,2 mmHg (норма 35–45 mmHg), HCO_3^- 21 ммоль/л (норма 22–26 ммоль/л) и PaO_2/FiO_2 330,4 на кислородной маске (сатурация 100%, 10 л/мин). Кроме того, было обнаружено незначительное увеличение концентрации фибриногена (4,6 г/л при норме 2–4 г/л) и скорости оседания эритроцитов 17 мм/ч (норма 2–15 мм/ч). Концентрация натрийуретического пептида головного мозга



▲ ***Рис. 19.1.*** *Компьютерная томография мужчины*

▼ ***Рис. 19.2.*** *Компьютерная томография женщины*



(165 пг/мл при норме <100 пг/мл) указывает на сердечную недостаточность при нормальной электрокардиограмме (ритм синусовый, ЧСС 75 уд/мин). Концентрация С-реактивного белка (11,30 нг/дл при норме <0,8 нг/дл) указывает на острую инфекцию. Т-лимфоциты CD3+ составляли 71,7%, Т-лимфоциты CD4+ составляли 41,5 %, и Т-лимфоциты CD8+ составляли 24,6 %.

На компьютерной томографии (Рис. 19.1) обнаружены множественные пятнистые консолидации и затемнение по типу «матового стекла» в обоих лёгких.

Женщина при поступлении имела температуру тела 37,3°C, ЧСС 101 уд/мин, частоту дыхания 22 вдоха в минуту, артериальное давление 108/69 mmHg. Аускультативно выявлено жёсткое дыхание с влажными хрипами, ритм сердца правильный. Воспаления подмышечных и паховых лимфатических узлов не выявлено. Живот плоский и мягкий, безболезненный.

Обнаружены незначительное повышение концентрации лейкоцитов (9,76 x 10^9/л при норме 4–9 x 10^9/л) и нейтрофилия (нейтрофилы 8,7 x 10^9/л при норме 0,04–0,3 x 10^9/л). Анализ газового состава крови выявил pO_2 59,5 mmHg (норма 90–100 mmHg), pCO_2 26 mmHg (норма 35–45 mmHg), HCO_3^- 17,8 ммоль/л (норма 22–26 ммоль/л) и PaO_2/FiO_2 284,8 на кислородной маске (сатурация 100%, 10 л/мин). Кроме того, было обнаружено увеличение концентрации фибриногена (7,4 г/л при норме 2–4 г/л) и С-реактивного белка (11,30 нг/дл при норме <0,8 нг/дл).

На компьютерной томографии (Рис. 19.2) обнаружены множественные пятнистые консолидации и воздушная бронхограмма (т. е. наличие воздуха в просвете бронха на фоне консолидации) в обоих лёгких.

У обоих пациентов была диагностирована тяжёлая внебольничная пневмония и назначена антибиотикотерапия (осельтамивир перорально и моксифлоксацин внутривенно, а также инъекции цефоперазона и сульбактама). Они также периодически получали неинвазивную искусственную вентиляцию лёгких и высокопоточную оксигенацию через назальные канюли. Были проведены бронхоскопические исследования, а образцы мокроты и бронхоальвео-

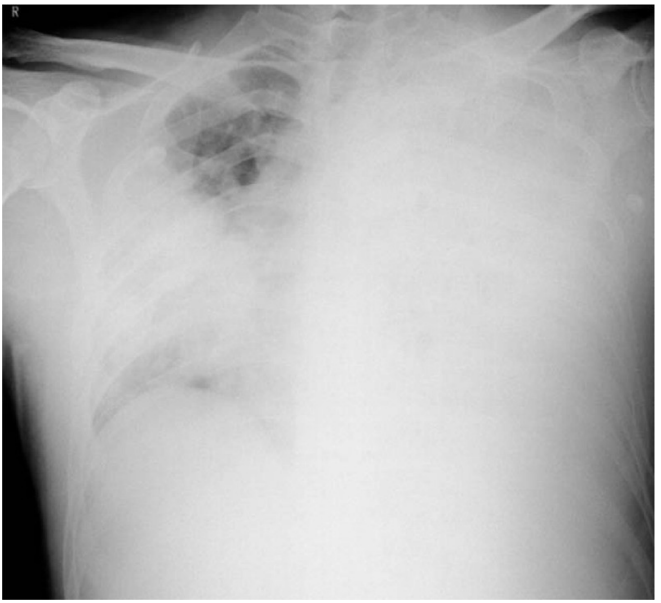


Рис. 19.3. *Рентгенограмма органов грудной клетки мужчины с двусторонним уплотнением в лёгких*

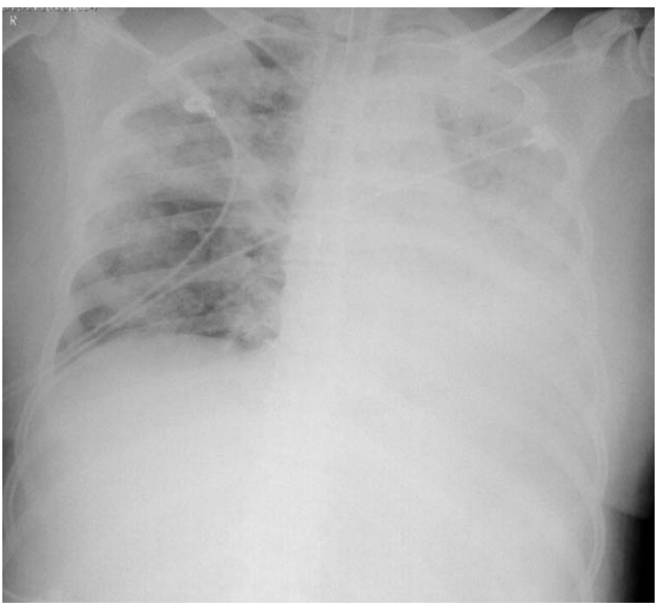


Рис. 19.4. *Рентгенограмма органов грудной клетки женщины с уплотнением в левом лёгком и пятнистой тенью в правом лёгком*

лярного лаважа отправлены в лабораторию. Только 12 ноября в образцах мокроты и крови с помощью полимеразной цепной реакции, иммунохроматографического анализа и реакции непрямой гемагглютинации смогли обнаружить Y. pestis (посев результатов не дал). Следует предположить, что поскольку мужчина работал с землёй, а случай произошёл во время эпизоотии, он заразился, вдохнув чумной аэрозоль, скопившийся в норе грызуна, тогда как его супруга, ухаживая за ним, заразилась от мокроты. Незадолго до этого, 8 ноября, обоим пациентам была сделана рентгенограмма органов грудной клетки (Рис. 19.3 и Рис. 19.4), и женщина была переведена на инвазивную искусственную вентиляцию лёгких. С момента обнаружения чумного микроба пациентов лечили раздельно: состояние мужчины улучшилось и он выздоровел, а супруга в конце концов умерла.

Первичная лёгочная форма чумы начинается внезапно и характеризуется фульминантным течением. Георгий Павлович Руднев с точки зрения клиники подразделяет эту форму на три стадии: *начальную, пиковую* и *терминальную*.

Клиническая картина на начальной стадии весьма разнообразна. Чаще всего болезнь начинается быстро (как и в описанном случае). Резко повышается температура, развивается сильная головная боль и повторяющаяся рвота. Возможна боль в груди режущего характера, учащение пульса, одышка и делирий. Отделяемая мокрота может быть стекловидной, жидкой, иметь запах или иметь включения крови. Возможно и её отсутствие (*сухая лёгочная форма*).

На пике присоединяется кашель, который вместе с кровавой мокротой содержит большое количество возбудителя и может стать причиной заражения окружающих людей (вспомним женщину из приведённого случая). Усугубляются признаки токсического поражения нервной системы. Появляется депрессия с возможным последующим возбуждением. Некоторые пациенты заторможены, бывают нарушения координации движений. Появляется тремор, и затрудняется артикуляция. Далее развивается сопор (оцепенение), лица пациентов приобретают характерный синюшный цвет, выглядят изнурёнными. Появляется тахикардия, тоны сердца приглушены. Заболевание переходит в генерализованную форму (септицемию), идентичную первичной септической форме.

На терминальной стадии наступает инфекционно-токсический шок, который играет решающую роль в развитии инфекционного процесса. Нарастает тахикардия и тахипноэ, снижается артериальное давление и нередко развивается анурия. Возможны носовые и желудочные кровотечения. Развиваются множественные тёмно-синие кровоизлияния (синяки) на коже и слизистой, переходящие в некроз.

Часто бывает слабость. Некоторые пациенты предпринимают попытки встать и убежать (чумной бред). Некоторые впадают в кому. Развивается почечная недостаточность и ДВС-синдром. Распространение воспалительного процесса в лёгких закономерно приводит к прогрессированию дыхательной недостаточности. Дыхание становится частым и поверхностным. На вдохе усиливаются боли в грудной клетке. Чаще всего пациенты умирают на 3–5 день заболевания, чему может предшествовать снижение температуры тела до нормальных значений.

20 ЧУМНОЙ МЕНИНГИТ

Случай первый. *Февраль 1975 года. Город Альбукерке, штат Нью-Мексико, США. Мальчик, 11 лет. Госпитализирован с температурой 38,3°С. В правой подмышечной впадине имеется болезненное твёрдое образование размером 10 см, а также рваная рана на правом предплечье и частично вырванный ноготь на среднем пальце правой руки. Из анамнеза известно, что любознательный подросток три дня назад нашёл мёртвого койота (в трупе животного обнаружена Y. pestis). Посевы аспирата крови и лимфатических узлов мальчика положительны на Y. pestis. На восьмой день болезни начата тетрациклиновая терапия. После улучшения состояния пациент выписан.*

Случай второй. *Июль 1975 года. Город Пекос, штат Нью-Мексико, США. Мальчик, 15 лет. Лихорадка, сопровождающаяся*

общим недомоганием и потливостью. По результатам осмотра (без госпитализации) начата тетрациклиновая терапия от невыявленной болезни.

Оба этих случая[1] объединяет то, что первый мальчик был повторно госпитализирован на 11 день болезни с вялостью и ригидностью затылочных мышц, а второй госпитализирован на 9 день болезни с сильной височной головной болью. У обоих были выявлены бактерии в спинномозговой жидкости и начата антибиотикотерапия (у первого – хлорамфениколом, у второго – ампициллином и тетрациклином), в результате которой наступило выздоровление.

Первый случай интересен ещё и проведённой[2] сцинтиграфией ^{67}Ga-цитратом или *галлий сканированием* (Gallium scan)[3], благодаря которому была показана не только возможность ранней диагностики чумы («твёрдое образование» накапливало ^{67}Ga), но впервые и, вероятно, единожды удалось визуализировать головной мозг при чумном менингите (Рис. 20.1).

Рассмотрим ещё один интересный случай, произошедший в 1963 году в США[4].

21 марта 23-летний военнослужащий, вернувшийся из города Нячанг (Вьетнам)[5], обратился за медицинской помощью с лихо-

---

[1] Becker T. M., Poland J. D., et al. *Plague meningitis – a retrospective analysis of cases reported in the United States, 1970–1979*. West J Med. 1987; 147(5):554–557.

[2] Stahly T.L., Shoop J.D. *Plague and the Gallium Scan: Case Report*. Journal of Nuclear Medicine. 1975; 16(11):1031-1032.

[3] Метод ядерной медицины, заключающийся в получении изображения с помощью гамма-камеры (сцинтилляционной камеры) в результате внутривенного введения пациенту препарата, содержащего радиоактивный ^{67}Ga (в данном случае ^{67}Ga-цитарт), ввиду способности последнего образовывать комплексы с сидерофорами бактерий (у *Y. pestis* это йерсиниабактин), благодаря чему возможна визуализация бактериальныхх скоплений.

[4] Feeley E. J., Kriz J. J. *Plague Meningitis in an American Serviceman*. JAMA. 1965; 191(5):412–413; DOI: 10.1001/jama.1965.03080050058021.

[5] В период с 1955 по 1975 год на территории Вьетнама, Лаоса и Камбоджи происходил вооружённый конфликт, вошедший в историю под названием Вьетнамская война, которая официально велась между Демократической Республикой Вьетнам (при поддержке СССР и других коммунистических государств) и Республикой Вьетнам (при поддержке США и других антикоммунистических государств). Примерно в это же время (в 60-х годах) на территории Вьетнама была эпидемия чумы. Примечательно, что в городе Нячанг (Вьетнам) некоторое время жил Александр Йерсен.

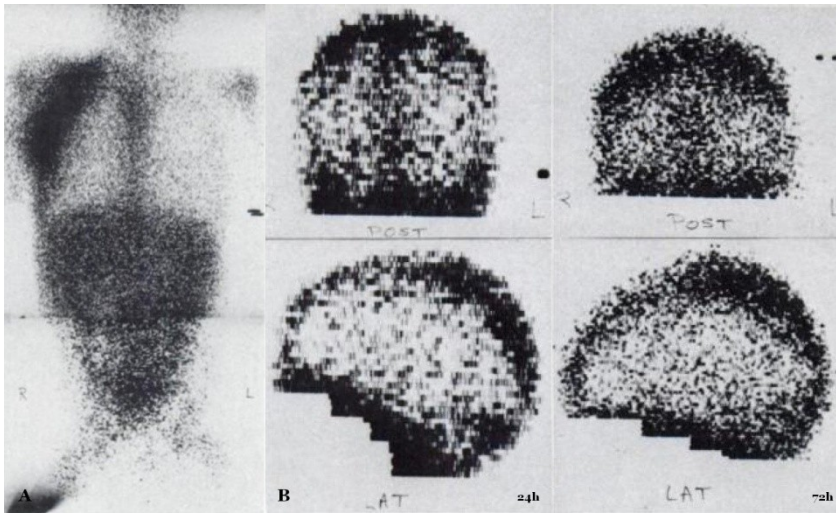


Рис. 20.1. *Изображения, полученные в результате галлий-сканирования (по Stahly T. L., 1975; публикуется с разрешения The Society of Nuclear Medicine & Molecular Imaging):*
А – полнотельное; обратите внимание на аномальное скопление ^{67}Ga в правых подмышечных узлах;
В – головной мозг через 24 часа (слева) и 72 часа (справа) после введения ^{67}Ga-цитрата. При сомнительной аномальности 24-часового результата, именно 72-часовая визуализация надёжно демонстрирует повышенное скопление ^{67}Ga на периферии (в оболочках головного мозга), что указывает на менингит

лихорадкой и болезненной опухолью в левой паховой области. Проводивший осмотр врач отметил сомнительное поражение полового члена и поставил диагноз «венерическая лимфогранулёма»[1]*. Несмотря на назначенную антибиотикотерапию (тетрациклин перорально), припухлость паха увеличилась, сопровождаясь отёком и эритемой (т. е. ограниченным покраснением кожи, возникшем в результате расширения сосудов дермы). 23 марта у пациента появилась головная боль в лобной части (без менингеальных симптомов), но паховая припухлость несколько уменьшилась. На сле-*

[1] Или болезнь Дюра́на – Николя́ – Фа́вра, хроническое инфекционное заболевание, передающееся половым путём, возбудителем которого являются инвазивные серовары L1, L2 и L3 *Chlamydia trachomatis*; характеризуется поражением бедренных, паховых, подвздошных и глубоких тазовых лимфатических узлов.

дующий день развилась ригидность затылочных мышц (т. е. повышенный тонус, затрудняющий движение). Люмбальная пункция выявила мутную жидкость с большим количеством полиморфоядерных клеток и ликворное давление 330 мм водного столба (норма 100–200 мм водного столба). Ввиду того, что пациент недавно вернулся из Вьетнама, образцы ликвора были подкожно введены морской свинке для выделения чумного микроба (окраска мазка ликвора по Граму отрицательная).

Во время перевода в военно-полевой госпиталь пациент имел жалобы на головную боль и боль в шее, высокую температуру (40,1°C). Отмечались выраженная ригидность затылочных мышц, положительный симптом Ке́рнига[1]*, умеренный отёк диска зрительного нерва без кровоизлияния на правом глазу, лимфаденопатия в левой паховой области, сочетанная с эритемой и лёгкой индурацией (т. е. уплотнением), небольшое изъявлённое образование на нижней стороне полового члена вблизи головки. Повторное исследование ликвора отрицательное (мазок по Граму и посев). На следующее утро температура снизилась до 37°C, однако состояние ухудшилось.*

2 апреля морская свинка, которой была сделана инъекция, была найдена мёртвой (смерть наступила на 8 день). Патологоанатомическое вскрытие выявило типичные признаки чумы (бубоны в паховой области рядом с местом инъекции, большая рыхлая селезёнка и геморрагическое уплотнение лёгких). Мазки из поражённых органов обнаруживали грамотрицательные палочки с биполярным окрашиванием (английская булавка), а отпечатки на среды – колонии, идентифицированные как Y. pestis. К моменту идентификации микроорганизма пациент уже имел бессимптомное течение,

[1] Один из симптомов ранней диагностики менингита; назван по имени описавшего его российского врача Владимира Михайловича Ке́рнига (1840–1917). Методика: в положении *лёжа* на спине пациенту пассивно сгибают нижнюю конечность в тазобедренном и коленном суставах под углом 90°. Ввиду тонического сокращения мышц, сгибающих голень, разогнуть ногу в коленном суставе пациенту самому оказывается невозможным. Следует помнить, что при наличии у пациента гемипареза симптом может оказаться *ложноотрицательным*, а у пожилых *людей* (при наличии мышечной ригидности) – *ложноположительным*.

но антибиотикотерапия была продолжена, и через три недели он вернулся в строй в отличном состоянии.

Менингеальная форма может проявиться в период реконвалесценции бубонной формы и быть рецидивом (первые два случая), а может проявиться на любой стадии инфекционного процесса, но чаще всего является осложнением при вторичной септической форме, развившейся после бубонной (третий случай). Данный случай служит отличным примером сложностей диагностики, поскольку из-за отсутствия лабораторного подтверждения бубонная форма чумы была диагностирована как лимфогранулёма. Дополнительную сложность вносил тот факт, что пациент являлся военнослужащим, проходившим службу на территории Вьетнама, и должен был быть вакцинированным от чумы[1]. Однако этого не было из-за частых переводов[2], а врачи решили не уточнять.

Средний возраст больных чумным менингитом составляет 16 лет (от 6 недель до 64 лет), 68% – мужчины. Характерными симптомами являются лихорадка, ригидность затылочных мышц и головная боль. Возможно проявление менингеальных симптомов. Редко присутствуют такие очаговые неврологические нарушения, как аномалии черепных нервов. По имеющимся данным, летальность больных в соответствии с антимикробным препаратом составляет 50% для фторхинолонов, 19% – для аминогликозидов, 14% – для сульфаниламидов[3], 11% – для хлорамфеникола и 0% – для тетрациклинов.

[1] В то время вакцинировали вакциной, содержащей 1,8–1,2 х 10^9 убитых клеток (в настоящее время запрещена к использованию в США). Подробнее о вакцинах поговорим в Главе 26.

[2] Тут также следует помнить случай из Монголии, где вакцинированный мужчина умер от чумы, употребив в пищу инфицированного сурка.

[3] В настоящее время не используются ввиду низкой эффективности.

21 КЛАССИФИКАЦИЯ

Итак, мы плавно подошли к классификации клинических форм чумы. Первую классификацию предложил в 1938 году Георгий Павлович Руднев[1], и согласно ей существуют следующие формы заболевания:

1. преимущественно локализованные:
   - кожная
   - бубонная
   - кожно-бубонная
2. внутренне-диссеминированные (генерализованные):
   - первичная септическая
   - вторичная септическая
3. внешне-диссеминированные:
   - первичная лёгочная
   - вторичная лёгочная
   - кишечная

В целом эта классификация соотносится с тем, что мы рассмотрели в Главах 17–20, за исключением кишечной формы. И перед тем, как поговорить о ней, рассмотрим следующий случай.

В начале прошлого столетия[2] в госпиталь родственниками был доставлен больной с обширным некротическим поражением кожи в височной области. С их слов, несколько дней назад он был во сне укушен крысой во время сна в область виска. Через 2 дня он заболел, а в месте укуса сразу началось быстро нарастающее глубокое омертвение тканей. Во время пребывания пациента в госпитале некроз распространялся, вскоре наступили сепсис и смерть. Диагноз был подтверждён бактериологически: чума.

Следует предположить, что причиной фульминантного течения болезни стала первичная септическая форма, однако в начале про-

[1] Руднев Г. П. *Клиника чумы, под ред. д-ра Ф. Р. Чушинского,* Ростовский государственный противочумный институт и кафедра инфекционных болезней Ростовского медицинского института, Ростов-на-Дону: Ростиздат, Тип. им. Коминтерна, 1938, 268 с.

[2] Dürk H. *Beiträge zur pathologischen Anatomie der Pest.,* Jena, 1904.

шлого столетия клиницисты не до конца понимали патогенез чумы и, вероятно, ориентировались на «внешние» проявления болезни, коим, в данном случае, и было кожное проявление. Впрочем, сам Георгий Павлович впоследствии выражал сомнение в возможности самостоятельного существования кожной формы. Тем не менее она включена в современные классификации.

Что касается кишечной формы, то, как уже много раз говорилось, её существование также весьма сомнительно, а включение её в классификацию, вероятно, связано с тем, что у примерно половины пациентов имеются симптомы со стороны желудочно-кишечного тракта, которые, как можно было убедиться, не являются самостоятельными. Более того, даже реализация алиментарного пути заражения (Глава 16) не приводит к развитию самостоятельной кишечной формы, поэтому в современных классификациях она отсутствует.

В настоящее время используется Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем, Десятого пересмотра (МКБ-10) и начат переход (до 2027 года) на классификацию Одиннадцатого пересмотра (МКБ-11). Приведём обе классификации.

МКБ-10

Код	**Нозологическая форма**	**Дополнительная нозологическая форма**
A20	Чума	
A20.0	Бубонная чума	
A20.1	Кожная чума	Кожная форма чумы
		Кожно-бубонная форма чумы
A20.2	Лёгочная чума	Пульмонарная чума
		Вторичная лёгочная чума
A20.3	Чумной менингит	
A20.7	Септическая чума	
A20.8	Другая уточнённая чума	Абортивная чума
		Бессимптомная чума
		Амбулаторная чума
		Тонзиллярная чума
		Фарингеальная чума
A20.9	Чума неуточнённая	

МКБ-11

Код	Нозологическая форма	Дополнительная нозологическая форма
1B93	Чума	
1B93.0	Бубонная чума	
1B93.1	Кожная чума	
1B93.2	Лёгочная чума	Чумная пневмония
		Чума лёгких
		Пульмонарная чума
		Вторичная лёгочная чума
		Первичная лёгочная чума
1B93.3	Чумной менингит	
1B93.Y	Другая уточнённая чума	Амбулаторная чума
		Бессимптомная чума
		Чума миндалин
		Тонзиллярная чума
		Абортивная чума
		Глоточная чума
		Pestis minor
		Септическая чума
		Септическая чума *без дальнейших уточнений*
		Септическая чума без упоминания о септическом шоке
1B93.Z	Чума неуточнённая	

Дополнительные коды:

1G40	*Сепсис без септического шока*
1G41	*Сепсис с септическим шоком*

Как можно видеть, из основных нозологических форм (диагнозов) была исключена «септическая чума» (A20.7), будучи переведённой в дополнительную форму в качестве «другой уточнённой чумы» (1B93.Y). В остальном изменения коснулись дополнительных нозологических форм. Из приведённых с большей частью мы уже встречались в рассмотренных случаях, однако о pestis minor, «амбулаторной чуме» (за исключением упоминания в конце Главы 17) и «абортивной чуме» пока не говорили. Кажется, пора это исправить.

Российская империя, станица Ветлянская (ныне – село Ветлянка, Астраханская область, Россия), 28 сентября 1878 года. 65-летний

казак Агап Хритонов страдает от болезни, сопровождающейся головной болью, общей слабостью, болью в боку и подмышечным бубоном, которую никак не могут определить местные врачи. Спустя 4 дня он умрёт, а болезнь распространится дальше, имея, однако, нехарактерную умеренность в количестве уносимых жизней. Несколько месяцев потребуется врачам для постановки верного диагноза, а затем ещё некоторое время правительство будет тянуть с объявлением эпидемии (и принятии соответствующих противоэпидемических мер), поскольку чума считается болезнью забытой, заносимой в развитые страны случайно и крайне редко. Тем не менее эта вспышка чумы заставит не только пересмотреть подход к санитарной охране государства и станет началом формирования понимания природной очаговости, но и приведёт к кризису учения о «миазмах»[1], господствующего в то время. Участниками ликвидации эпидемии стали как отечественные, так и зарубежные специалисты, которые из-за нехарактерного преимущественно лёгкого течения называли болезнь «амбулаторной чумой» (pestis ambulans), «местной чумой» (pestis nostras) и «абортивной чумой» (peste frustre), что фактически было синонимами.

Британская Индия, 1896 год. Уильям Джон Си́мпсон[2], редактор Индийской медицинской газеты (The Indian Medical Gazette) и по совместительству санитарный врач города Калькутты диагностирует чуму у нескольких солдат, временно дислоцированного в городе Королевского Шропширского лёгкого пехотного полка. Однако его страшный диагноз, ничего, кроме паники, не вызвавший, в скором времени был опровергнут войсковыми врачами.

В том же году в самом сердце Британской Империи, в стенах Энтомологического общества города Лондона, Джеймс Кэ́нтли[3]

---

[1] Напомним: учение о «заразительных началах», являющихся испарениями процессов гниения и иных нечистот (например, испарения болот). Проникая в воздух, эти испарения вдыхаются человеком и вызывают болезни. Данное учение противопоставлялось учению о «контагиях», то есть небольших заразных частицах, виновных в возникновении эпидемий.

[2] Sir William John Simpson, 1855–1931; британский (шотландский) врач, специалист по тропической медицине.

[3] Sir James Cantlie, 1851–1926; британский (шотландский) врач, хирург, пионер первой помощи, участник ликвидации эпидемии чумы в городе Гонконге (1894). Один из основателей Лондонской школы тропической медицины и Королевского

читает лекцию об опыте борьбы с чумой, уделяя особое внимание роли крыс. В то время считалось, что крыса не является переносчиком чумы, но, как и человек, всего лишь случайная жертва, гибель которой происходит из-за частого контакта животного с землёй, которая и является естественным местом обитания чумных бактерий. Следовательно, любая массовая гибель людей от чумы всегда сопровождается массовой гибелью крыс (вспомним слова китайского поэта Ши Таоняна: «спустя несколько дней после гибели крыс люди падают, как обрушивающиеся стены»). Однако именно этого – массовой гибели крыс – и не было в городе Калькутте, на основании чего лектор делает вывод, что эта форма чумы доброкачественная, то есть «*амбулаторная*» или «*малая*» (pestis minor)[1].

Важной проблемой оставалось то, что при наличии схожих с чумой симптомов (пусть и менее выраженных, чем при, как тогда говорили, «истинной чуме»), ни один исследователь не мог подтвердить диагноз бактериологически, то есть выделить чистую культуру чумного микроба. Поэтому уже через два месяца Джеймс Ло́усон[2] выступил с резкой критикой идей Джеймса Кэ́нтли. Он утверждает, основываясь на собственном клиническом опыте, что все истории с pestis minor (бубоны и лихорадки) не более, чем симптомы венерических заболеваний у взрослых и эпидемического паротита[3] у детей. Тем не менее он не отрицает существования «амбулаторной чумы», которая, как ему кажется, реализуется путём попадания в организм небольшого количества токсина, но без бактериального заражения, поскольку токсин может «бродить по

общества тропической медицины и гигиены (The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene).

[1] При этом Джеймс Кэнтли склонялся к выводу о том, что «бацилла доброкачественной разновидности становится злокачественной, проходя через какого-то промежуточного хозяина, возможно, но не обязательно, через крысу».

[2] James Lowson; британский врач, работавший в г. Гонконге, Британский Гонконг.

[3] Один из видов паротита, острого инфекционного детского заболевания с негнойным поражением околоушных слюнных желёз (реже поджелудочных, половых). Название «эпидемический паротит» (parotitis epidemica) происходит от glandula parotidea (околоушная слюнная железа), которая чаще всего воспаляется. В 1934 году было установлено, что возбудителем заболевания является вирус *Mumps orthorubulavirus* (*Mumps virus,* MuV) из семейства *Paramyxoviridae* (парамиксовирусы).

окрестностям достаточно долго после того, как все бациллы[1] умрут»[2].

Говоря о позиции Джеймса Лоусона, нельзя обойти вниманием то обстоятельство, что у него имелась личная вражда с Джеймсом Кэнтли ещё со времен ликвидации эпидемии в городе Гонконге (1894), и вполне вероятно, что именно она была основной причиной его неприятия идей последнего. Как мы помним, именно во время той вспышки болезни Александр Йерсен и Китасато Сибасабуро открыли возбудитель чумы. При этом Александр Йерсен выдвинул предположение, что чумной микроб может сохраняться в авирулентной форме в земле, восстанавливая через некоторое время свою вирулентность и вызывая новые вспышки (фактически так он объяснял межэпизоотические периоды, о которых подробно говорили в Главе 4). У этой идеи было мало сторонников, поскольку буквально пять лет назад, совместно с Эми́лем Ру[3] (представители научной школы Пастера), он отстаивал мнение, что повсеместно обнаруживаемая ложнодифтерийная палочка (*Corynebacterium pseudodiphtheriticum*) является ослабленной формой дифтерийной палочки (*Corynebacterium diphtheriae*), хотя Роберт Кох доказывал, что это различные виды бактерий. Считая, что Александр Йерсен снова ошибается, Джеймс Лоусон критиковал его идею и как приверженец научной школы Коха отстаивал приоритет Китасато Сибасабуро (как мы помним также представителя этой научной школы) в вопросе открытия возбудителя чумы. И хотя сторонники Александра Йерсена были тогда в меньшинстве, приоритет был закреплён за ним, в чём немалую роль сыграл Джеймс Кэнтли. Вполне возможно, что лекция и дебаты вокруг pestis minor просто стали удобным поводом для возвращения к старой вражде.

Так или иначе, возможность существования pestis minor, «амбулаторной чумы» и «абортивной чумы» широко обсуждалась специалистами. Уже в октябре 1903 года в Индийскую медицинскую

[1] Имеются в виду чумные микробы; вплоть до середины XX века все бактерии именовали бациллами.

[2] Данное мнение могло сложиться из-за существования так называемых некультивируемых форм, которые не способны к делению, но при определённых условиях способны переходить в культивируемое состояние (подробнее об этом в Главе 30).

[3] Émile Roux, 1853–1933; французский бактериолог, член Французский академии наук (1899). Занимался изучением дифтерии и других инфекционных болезней.

газету приходит письмо Джона Ри́ттера-Уи́льямсона[1], в котором он интересуется возможностью существования «амбулаторной чумы» у лиц, работающих с больными, сообщая, что именно эта форма лучшим образом объясняет наличие thanda phora («холодного фурункула»), то есть незначительного увеличения лимфатических узлов на фоне умеренной лихорадки[2].

В конце концов, изучив все имеющиеся мнения и доводы, которые по-прежнему не имели достоверного бактериологического подтверждения, Индийская комиссия по исследованию чумы (1907) дала следующее клиническое определение: «Больной страдает от головной боли и бессонницы, от лёгкой лихорадки, длящейся всего несколько часов, от болезненности и боли над одной или несколькими поверхностными железами [то есть лимфатическими узлами – *Примеч. автора*], обычно в паху, которые часто увеличиваются, а иногда от тошноты и рвоты. Продолжительность может быть такой короткой, как всего два или три дня, но нередко увеличение желез более стойкое, и продолжительность из-за этого или из-за того, что в железах произошло нагноение, затягивается до десятого, двадцатого или даже тридцатого дня. Все случаи заканчиваются выздоровлением».

Нозологические формы pestis minor и «амбулаторная чума» как синонимы друг друга продолжили своё существование, будучи признаваемыми одними специалистами (причём некоторые их считали разными формами) и не признаваемыми другими, но так или иначе диагноз ставился чисто клинически, не имея под собой достоверного бактериологического подтверждения, за исключением, пожалуй, одного известного случая.

26 февраля 1904 года[3]*, в городе Манила (Филиппины), 17-летний юноша, работник городского завода по производству соды, не страдающий никакими заболеваниями, за исключением того, что последние две недели имел бледный контур лица и проблемы со сном, как и всегда, проводит вечер на улице со своими друзь-*

[1] John Rutter-Williamson; британский врач.

[2] Интересно, что в качестве довода он ссылается на брюшной тиф и дифтерию.

[3] Herzog M., Hare C. B. *Latent and ambulatory plague*. JAMA. 1904; XLIII (24):1781–1788; DOI: 10.1001/jama.1904.92500240002k.

Correspondence.

AMBULATORY PLAGUE.

To the Editor of "THE INDIAN MEDICAL GAZETTE."

SIR,—I should be interested to know from your readers whether it is at all common to find mild fever and slight glandular swellings in persons who have been working amongst plague patients.

In the past few months, I have come across five medical practitioners who stated that after examining many plague patients they experienced tenderness and some swelling of glands, usually axillary. In one case this was accompanied by slight fever, but not enough to render it necessary to forego any accustomed professional duties.

A medical man in the Punjab (Dr. H. F. Lechmere Taylor) tells me that up there people freely talk of "thanda phora," "the cold boil," for cases which seem like mild plague, occurring as glandular enlargements without fever, during plague epidemics.

Theoretically there seems no reason why there should not be an ambulatory form of plague, just as there is of typhoid fever, or diphtheria.

Have any readers met with post-plague paralyses after such mild cases? What has been their character? Have they been ever found of as severe a character as is so frequently, met with after undoubted attacks of plague?

MIRAJ;
BOMBAY PRESDY.

Yours, etc.,
I. RUTTER WILLIAMSON, M.D.

Письмо врача Джона Риттера-Уильямсона, опубликованное в The Indian Medical Gazette (1903): «Сэр, мне было бы интересно узнать у Ваших читателей, часто ли можно обнаружить лёгкую лихорадку и и небольшое опухание желёз у людей, которые работали среди больных чумой. За последние несколько месяцев я встретил пять практикующих врачей, которые заявили, что после обследования многих больных чумой у них наблюдалась болезненность и некоторых отёк желёз, обычно подмышечных. В одном случае это сопровождалось небольшим повышением температуры, но недостаточным для того, чтобы отказаться от любых профессиональных обязанностей. Врач из Пенджаба (Dr. H. F. Lechmere Taylor) рассказал мне, что там люди спокойно говорят о "thanda phora", "холодном фурункуле", в случаях, похожих на лёгкую чуму, возникающих в виде увеличения желёз без лихорадки во время эпидемий чумы. Теоретически, кажется, нет причин, по которым не могла бы существовать амбулаторная форма чумы, как это бывает при брюшном тифе или дифтерии. Сталкивался ли кто-нибудь из читателей с послечумным параличом после таких лёгких случаев? Каков был их характер? Были ли они когда-нибудь столь суровы, как это встречается, несомненно, после приступов чумы?»

ями. Он играл до 11 часов вечера, после чего пошёл спать. Около полуночи он проснулся от сильной боли в груди и затруднённого дыхания. Прибывший врач ничего не мог сделать, и через 2 часа юноша скончался. Внешнее обследование не выявило ничего примечательного, за исключением небольшого увеличения паховых лимфатических узлов с незначительным периаденитом бедренного треугольника, а также хронической инфекцией кожи обеих ног. Патологоанатомическое вскрытие обнаружило характерные изменения в печени, селезёнке и лёгких, выраженные очагами воспаления, однако причиной смерти стала эмболия лёгочной артерии. В посевах мазков, взятых с печени, селезёнки и лимфатических узлов, были обнаружены «бациллы… имеющие типичный внешний вид, демонстрирующие биполярное окрашивание и закруглённые концы» (как мы помним, это классический внешний вид чумного микроба, см. Рис. 13.8).

Как мы видим, все три термина по сути относятся к одной нозологической форме, которая клинически виделась лёгкой формой «настоящей чумы» (бубоны, поражения лёгких), но редко подтверждалась бактериологически. Объяснением этого может служить две причины. Во-первых, и мы об этом будем говорить далее, не всё, что похоже на чуму, ею является. Вспомните, что не спаянный с кожей безболезненный бубон характерен для туляремии, а не чумы. И в этой связи нельзя обойти стороной историю Сергея Петровича Бóткина[1], известного врача, который в 1879 году диагностировал чуму у столичного дворника Наума Прокофьева. Страшный диагноз спровоцировал панику во всём Петербурге и бегство жителей. Вместе с тем дворник достаточно быстро пошёл на поправку (вероятнее всего у него была туляремия), что обрекло Сергея Петровича на насмешки и обвинения в непрофессионализме. И хотя он сохранял убеждённость в верности своего диагноза, кто знает, может быть, именно это событие стало отправной точкой, приведшей через 10 лет к инфаркту миокарда, от которого он и скончался.

[1] 1832–1889; российский врач, терапевт, физиолог, организатор здравоохранения, автор многочисленных работ по инфекционным болезням. Один из основоположников современной российской медицины. Председатель Общества русских врачей (1878–1889). В поэме Алексея Николаевича Некрасова «Кому на Руси жить хорошо» Сергею Петровичу Боткину посвящена глава «Пир на весь мир» из второй части произведения.

Нельзя сказать, что сложности в дифференциальной диагностике были проблемой исключительно того времени. В Главах 18 и 20 мы видели современные случаи, когда женщине с первичной септической чумой и мужчине-военному с чумным менингитом достаточно долго не могли поставить верный диагноз. И оба этих случая закономерно приводят нас ко второй причине – сложностям выделения культуры. Конечно, в приведённых ранее современных случаях сложности в выделении культуры обусловлены антибиотикотерапией. Однако в конце XIX века уровень бактериологических методов был далёк от современных, поскольку медицинская наука того времени только-только начала отказываться от «миазмов» в пользу существования «контагий» (тогда ещё только бактерий, поскольку вирусы не были открыты[1], а грибы считались растениями[2]). Что говорить, если в учебниках по бактериологии даже начала XX века читаем[3] о том, что чумной микроб не красится по Граму! Тем не менее данные нозологические формы сохранились до наших дней и присутствуют в МКБ-11 в качестве дополнительных.

[1] В 1892 году российский врач Дмитрий Иосифович Ивано́вский (1864–1920), занимаясь изучением болезней табака, высказал гипотезу, что мозаичную болезнь табака вызывают мельчайшие бактерии либо токсин, выделяемый ими. Дело в том, что экстракт перетёртых заражённых листьев табака, будучи пропущенным через фильтр Шамберле́на (поры фильтра задерживают бактерии), сохранял инфекционные свойства, но не вырастал на чашке. Под микроскопом такой экстракт содержал кристаллоподобные тела. Только в 1939 году, с появлением первых электронных микрофотографий, этот возбудитель был идентифицирован как вирус табачной мозаики (ВТМ, TMV, *Tobacco mosaic virus*), а кристаллоподобные тела впоследствии стали назвать «кристаллами Ивановского». Таким образом, 1892 год принято считать началом вирусологии. Термин «вирус» (лат. virus – «яд») известен с XVIII века и до середины XX века обозначал любой инфекционный агент.

[2] До недавнего времени грибы и водоросли считались «низшими растениями», поэтому до настоящего времени в некоторых университетах можно встретить кафедры низших растений и курсы по ним.

[3] См., например, Габричевский Г. *Медицинская бактериология*, изд. 4-е, посмертное, Москва: Типо-литография Т-ва И. Н. Кушнеревъ и К°, 1909, 560 с.

22 ДИАГНОСТИКА

Клиническая диагностика чумы представляет собой определённую сложность, особенно в межэпидемический период (спорадический случай), ввиду схожести клинических проявлений с большим количеством заболеваний. И если точность диагностики без лабораторных исследований при бубонной форме сложна, хотя и возможна, то при первичной лёгочной форме она сомнительна, а при первичной септической – невозможна. Вспомните, как в ранее описанных случаях чумные бубоны принимались за венерические лимфогранулёмы (Глава 20), первичная септическая форма – за тромботическую тромбоцитопеническую пурпуру (Глава 18), а первичная лёгочная форма – за крупозную пневмонию (Глава 15) и тяжёлую внебольничную пневмонию (Глава 19). И во всех случаях (за исключением крупозной пневмонии) верный диагноз был поставлен исключительно бактериологически, то есть путём выделения и идентификации чистой культуры возбудителя.

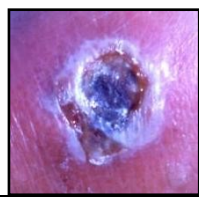
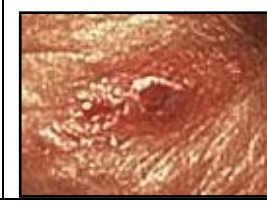
В Главе 17 мы говорили, что в начале течения заболевания чуму можно *заподозрить* только на основании эпидемиологического анамнеза. Действительно, когда блоха укусила человека в эндемичном районе, то вполне очевидно говорить о подозрениях на чуму. Однако заразиться можно от иных эктопаразитов, а также грызунов и млекопитающих. Представим себе такую ситуацию: человека укусила крыса. На месте укуса появилась язва (первичный аффект), развилось воспаление регионарных лимфатических узлов (лимфаденит), температура поднялась до 40°С, имеют место сильные мышечные боли и психическое возбуждение. Что это? Похоже ли это на случай из Главы 21, когда человека в голову укусила крыса (посмертное бактериологическое исследование показало чуму)? Однако приведённый сейчас случай относится к содо́ку, болезни, вызываемой грамотрицательными бактериями *Spirilla minus* (также известными как *Spirilla minor*). Справедливости ради следует заметить, что инкубационный период для содоку составляет в среднем 10–14 дней, хотя он может колебаться от 3 дней до 2 месяцев. Схожий инкубационный период и симптомы характерны для доброкачественного лимфоретикулёза (болезни кошачьих царапин), вызывае-

мого грамотрицательными бактериями *Bartonella henselae*. Как видно из названия, причиной заболевания служит царапина, реже укус или тесный контакт с кошкой. Сложность эпидемиологического анамнеза в этом случае заключается в том, что кошки достаточно часто спят в постели хозяина и определить утром, является ли это царапиной, укусом кошки или укусом блохи с кошки, больному будет затруднительно. А в случае ребёнка вообще будет сложно установить, где и при каких обстоятельствах он получил ту или иную царапину (да и кто из родителей обратит своё внимание на неё). Как видно из этих трёх примеров, дифференцировать чуму даже при наличии эпидемиологического анамнеза бывает весьма сложно.

Вместе с тем, когда у врача имеются только *подозрения* на чуму, *рекомендуется начинать антибиотикотерапию*, не дожидаясь результатов бактериологического исследования, поскольку это может спасти жизнь (особенно хорошими препаратами в этом случае являются левофлоксацин и моксифлоксацин). И если бы Симон Зеликович Горелик жил в эру антибиотиков, то он и Абрам Львович Берлин, вероятнее всего, были бы живы (однако не забываем про случай с наследственным гемохроматозом из Главы 14). Видится, что одно это обязывает нас поговорить о дифференциальной диагностике, чтобы понять, насколько сложно было врачам без бактериологических исследований диагностировать чуму и почему так много эпидемий, вызванных иными микроорганизмами, было приписано именно ей. Ведь ещё Гале́н[1] утверждал, что если болезнь на одном месте поражает многих людей и многие от неё умирают, то это чума. Рассмотрим на конкретных примерах, что это далеко не так.

[1] Γαληνός, 129–216; древнеримский врач и философ греческого происхождения. После захвата Западной части Римской империи его труды были уничтожены захватчиками и, следовательно, оставались недоступны для новой западной цивилизации (при этом в Восточной части Римской империи они оставались актуальными и были переведены на арабский для сирийцев и арабов), которая с ними смогла познакомиться только в виде переводов с арабского языка в XI веке. Тем не менее его труды по анатомии оставались актуальными до 1543 года, теория кровообращения просуществовала до 1628 года, а теория о высшей нервной деятельности существует до настоящего дня. Труды Галена изучались в медицинских университетах вплоть до XX века.

Кожная форма. Георгий Павлович Руднев пишет[1], что кожную форму «реже других видят и обычно хуже знают». Как мы помним, характеризуется она наличием первичного аффекта. Соответственно дифференцируют её от кожных форм сибирской язвы и туляремии.

Первичный аффект		
сибиреязвенный	**чумной**	**туляремийный**
характеризуется серозным и серозно-геморрагическим экссудатом		
	с гноем или гноеподобной жидкостью	с гноем
на вершине конусообразный выступ		
имеется	не имеется	не имеется
после омертвения образуются новые пузырьки		
часто	не часто	не образуются
сопровождается периферическим отёком		
значительным, может распространяться на всё лицо или руку	незначительным	средним
	прилегающие ткани	
пастозные	плотные	плотные
регионарные лимфатические узлы		
Воспалены незначительно	могут быть сильно воспалены или не воспалены	могут быть воспалены или не воспалены
		

[1] Руднев Г. П. *Клиника чумы, под ред. д-ра Ф. Р. Чушинского,* Ростовский государственный противочумный институт и кафедра инфекционных болезней Ростовского медицинского института, Ростов-на-Дону: Ростиздат, Тип. им. Коминтерна, 1938, 268 с.

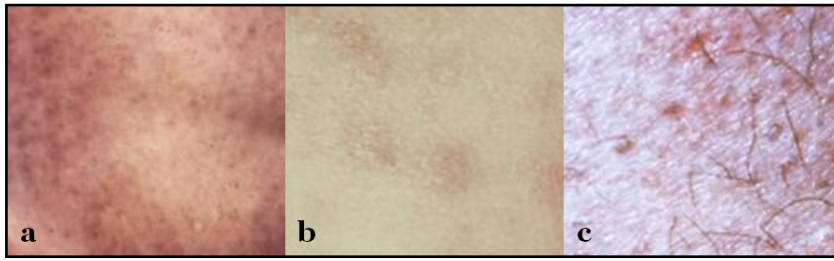


Рис. 22.1. *Сыпь при различных риккетсиозах:*
a – сыпной тиф (Rickettsia prowazekii), b – пятнистая лихорадка скалистых гор (Rickettsia rickettsia), c – осповидный риккетсиоз (Rickettsia akari)

Первичный аффект возможен при некоторых венерических заболеваниях. При **венерическом лимфогранулематозе**, вызываемом сероварами L1, L2 и L3 *Chlamydia trachomatis* (именно это заболевание первоначально диагностировали у мужчины-солдата из Главы 20), первичный аффект имеет вид небольшой, быстро регрессирующей и безболезненной эрозии (т. е. поверхностного дефекта эпителия), которая очень часто не замечается больными. При **мягком шанкре**, вызываемом грамотрицательной бактерией *Haemophilus ducreyi* (палочка Дюкре́я), первичный аффект имеет вид красного пятна, в центре которого возникает пузырёк, переходящий в пустулу и затем в болезненную гнойную язву, которая через несколько недель рубцуется.

При **гнойных лимфаденитах** стафилококкового и стрептококкового генеза первичный аффект отсутствует, однако обнаруживаются местный отёк и локальный воспалительный процесс, который несколько меньше, чем при чуме (также температура не такая высокая и общее состояние несколько легче).

Сыпь при чуме бывает крайне редко, однако её следует отличать от сыпи, характерной для **сыпного тифа**, вызываемого риккетсиями группы сыпного тифа (*Rickettsia prowazekii, Rickettsia typhi* и *Rickettsia felis*), а также других **риккетсиозов** (Рис. 22.1), поскольку переносчики возбудителей данных заболеваний (клещи и вши) крайне редко могут выступать в качестве переносчиков чумы.

Бубонная форма. Бубонную форму чумы дифференцируют прежде всего от бубонной формы туляремии.

Чумной бубон	**Туляремийный бубон**
образован регионарными лимфатическими узлами возможно появление вторичных бубонов вовлечение кожной клетчатки	
значительное (периаденит) ↓ бубон спаян с кожей (нечёткие границы)	отсутствует или незначительное ↓ бубон не спаян с кожей (чёткие границы)
серозно-геморрагическое пропитывание и кровоизлияния выражены	
резко ↓ патологоанатомическая картина очагов некроза в виде полей с участками серозно-геморрагического пропитывания	нерезко ↓ патологоанатомическая картина чётких очагов некроза («сухая»)
резко болезненный	безболезненный или слабоболезненный
	

Бубон при **гнойных лимфаденитах** стафилококкового и стрептококкового генеза в целом похож на туляремийный, правда, в отличие от последнего, возможен периаденит. Важной дифференциальной диагностической особенностью туляремии и гнойных лимфаденитов является наличие первичных лимфангитов, которых не



Рис. 22.2. *Правый паховый бубон у мужчины при венерическом лимфогранулематозе. Обратите внимание, как сильно он похож на чумной (1966)*

бывает при чуме. Как пишет[1] Владимир Николаевич Лобанов, «в остром периоде болезни они видны при наружном осмотре как красные полосы, идущие от места никновения заразного материала по направлению к регионарному лимфатическому узлу».



Рис. 22.3. *Крупный свищ, образовавшийся на месте левого пахового бубона, с вытекающим из него гноем у мужчины при венерическом лимфогранулематозе (1968)*

При некоторых венерических заболеваниях также формируются бубоны. При **венерическом лимфогранулематозе** возможно увеличение паховых лимфатических узлов, их слияние и спаивание с окружающими тканями, то есть формирование бубона, кожа над которым, как правило, краснеет (Рис. 22.2). Затем возможно размягчение бубона с образованием свищей, через которые выходят массы жёлто-зелёного гноя (Рис. 22.3), после чего происходит рубцевание. Можно видеть, что это описание очень похоже на описание чумного бубона, поэтому неудивительно, что в случае мужчины-военного (случай из Главы 20)

[1] Лобанов В. Н. *Патологическая анатомия и патогенез чумы у человека*, М.: Гос. изд. мед. лит. «Медгиз», 1956, 176 с.

заподозрили именно это заболевание. Главным дифференциальным диагностическим признаком является длительность процесса формирования бубона (формируется на 10–14 день; при чуме – на 2–3 день) и меньшая выраженность симптома интоксикации (наступает уже после «прорыва» бубона), однако, когда пациент пришёл на приём уже с бубонами, крайне сложно установить, на какой день они появились.

При **мягком шанкре** возможно увеличение паховых лимфатических узлов с незначительным периаденитом (Рис. 22.4), что визуально похоже на небольшой чумной бубон с плохо определяемыми границами (Рис. 17.7).

При **паховой гранулёме**, вызываемой грамотрицательными бактериями *Klebsiella granulomatis*, как правило, образуются небольшие безболезненные узелки (гранулёмы), которые затем лопаются и рубцуются. В большинстве случаев гранулёмы локализуются на стволе пениса у мужчин и половых губах у женщин. Однако в редких случаях возможно воспаление паховых лимфатических узлов с их последующим «прорывом» и выходом гноя (Рис. 22.5).

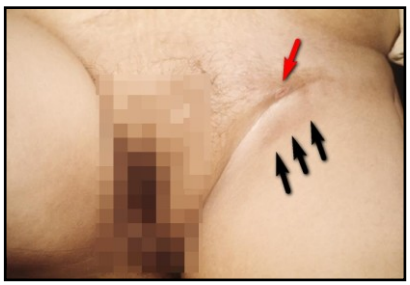


Рис. 22.4.
Левый паховый бубон у женщины (нижние границы отмечены чёрными стрелками) при мягком шанкре. Обратите внимание на место «прорыва», отмеченное красной стрелкой (1976)



Рис. 22.5.
«Прорывы», образовавшиеся на местах правого и левого паховых бубонов, с вытекающим из них гноем у мужчины при паховой гранулёме (1979)

Лёгочная форма. Лёгочную форму чумы дифференцируют прежде всего от лёгочной формы сибирской язвы и крупозной пневмонии.

Сибирская язва	Чума	Крупозная пневмония
катаральные явления (т. е. симптомы простуды)		
присутствуют	отсутствуют	возможны
аускультативная картина		
влажные хрипы, возможен шум трения плевры	скудная (не соотносится с тяжестью заболевания)	влажные хрипы, бронхиальное дыхание (грубое, выслушивается на вдохе и выдохе; похоже на звук при произнесении буквы «х» открытым ртом)
болевой синдром		
незначительный	отсутствует	выраженный
мокрота		
слизистая с незначительной примесью крови	жидкая или стекловидная, может включать примесь крови	слизисто-гнойная, ржавая, может быть с примесями мало изменённой крови
поражения		
в виде рассеянных крупных очагов ↓ крупные очаги некроза на патолого-анатомическом вскрытии	в виде рассеянных мелких очагов ↓ гладкая структура (мелкие очаги некроза) на патолого-анатомическом вскрытии	целой доли (значительной её части), нескольких или всех долей ↓ зернистость на патолого-анатомическом вскрытии
изменения плевры		
возможен плеврит с кровоизлияниями в плевральных листках, но без перехода из фибринозного в гнойный	серозный или серозно-геморрагический плеврит с большим количеством жидкости в плевральной полости (до 2 литров)	плеврит на стороне поражённого лёгкого, возможен переход из фибринозного в гнойный
возможно распространение инфекционного процесса на		
трахею и бронхи	трахею и бронхи	бронхи

При **сыпном тифе**, осложнённом пневмонией, поражения лёгких крайне похожи на поражения при чумной пневмонии, разве что кровоизлияния при чуме на патологоанатомическом вскрытии крупнее и многочисленнее. Кроме того, плеврит при сыпном тифе может быть гнойным. Изменения в трахее и бронхах также схожи, однако редко при сыпном тифе бывают фибринозные плёнки на слизистой оболочке. В случае **гриппа**, протекающего с пневмонией, также следует говорить только об отличии в изменениях трахеи и бронхов, выраженных набуханием слизистой оболочки и множественными кровоизлияниями, из-за чего она имеет насыщенно-красный цвет. Вместе с тем если пневмония протекает по типу фибринозной (крупозной) или межуточной (т. е. воспалительный процесс протекает в строме (межуточной ткани) лёгкого), то следует исключить чуму, поскольку ей не свойственно такое течение.

Как можно видеть из описанного выше, симптоматические проявления чумы схожи с проявлениями других заболеваний, и даже наличие эпидемиологического анамнеза далеко не всегда упрощает задачу клинициста. В этой связи Всемирной организацией здравоохранения разработаны[1] *критерии определения случая чумы* (последняя редакция, перевод автора).

Предполагаемый случай

клиническая картина характерна для чумы:

- внезапное появление лихорадки, озноба, головной боли, сильного недомогания, прострации, болезненного увеличения лимфатических узлов;

или

- кашель с кровянистой мокротой, боль в груди, затруднённое дыхание.

и

эпидемиологический анамнез, предполагающий возможное заражение чумой:

- контакт с инфицированными людьми или животными;
  - *под контактом понимается нахождение в закрытом пространстве (например, помещении, автомобиле, бараке, тюрьме) с больным, имеющим подозрение на лёгочную форму чумы, в течение двух дней до появления у него*

[1] Weekly Epidemiological Record (World Health Organization). 2021; 96(23):238–240.

симптомов и в течение двух дней после того, как он начал соответствующую антибиотикотерапию[1].

или

- проживание или поездка в известный эпидемический очаг в течение 10 дней до начала болезни.

Вероятный случай

Критерии предполагаемого случая;

и

ОДНО из следующего:

- обнаружен капсульный антиген в аспирате бубона, мокроте, крови или тканях (на патологоанатомическом вскрытии) с помощью экспресс-теста (иммунохроматографический анализ) или прямым методом флуоресцирующих антител (реакция Альберта Ку́нса)[2];
- единичное обнаружение антител к капсульному антигену (анти-FI) при отсутствии в анамнезе перенесённой чумы или вакцинации;
- обнаружение грамотрицательных коккобацилл в клиническом образце, которые при окрашивании по Вейсону или по Гимзе дают биполярное окрашивание[3].

Подтверждённый случай

Критерии предполагаемого случая;

и

ОДНО из следующего:

- выделение *Y. pestis* из клинического образца: колония должна иметь соответствующую морфологию и быть идентифицирована как *Y. pestis* на основании КАК МИНИМУМ ДВУХ из следующего:

---

[1] *Interregional meeting on prevention and control of plague*, Antananarivo, Madagascar 1–11 April 2006 (Geneva: World Health Organization; 2006).

[2] Подробнее о лабораторных методах поговорим в Акте III.

[3] Биполярное окрашивание также можно видеть при окрашивании по Райту (Рис. 13.8).

- лизис специфическими бактериофагами при 20–25°С;
- биохимический профиль;
- обнаружение капсульного антигена;

- сероконверсия (т. е. появление антител) или четырёхкратная разница в титре антител к капсульному антигену (анти-FI) в парных образцах сыворотки, взятых с интервалом не менее 2 недель;
- обнаружение ДНК *Y. pestis* методом полимеразной цепной реакции в клиническом образце либо выделенной культуре.

23 ЛЕЧЕНИЕ (БОЛЕЗНЬ ЖАРА РИМ)

С древних времён человечество пыталось облегчить бремя различных болезней. До нас дошли свидетельства о существовании систем здравоохранения уже в первых цивилизациях, самой известной из которых, пожалуй, является древнеегипетская. Затем, с течением времени, медицинская наука развивалась и совершенствовалась, и к настоящему моменту мы формально имеем две независимо друг от друга сложившиеся системы: основную («западную») и дополнительную, которую ещё принято называть традиционной медициной[1], поскольку она базируется на эмпирических знаниях, накопленных народной традицией, и неразрывно связана с философско-религиозным мировоззрением, тогда как «западная», хотя и начинала свой путь в стенах монастырей, достаточно быстро стала независимой, положив в свою основу научную доказательную базу. Следует оговориться, что под традиционной медициной сейчас чаще всего понимают традиционные медицинские системы,

[1] Следует оговориться о различии терминов «народная медицина» и «традиционная медицина». Так, начиная со второй половины прошлого века под первой понимают устную медицинскую традицию, а под второй – письменную.

сформировавшиеся на территории Центральной и Юго-Восточной Азии (восточная медицина), вероятно, потому, что они вызывают сильный интерес исследователей, а также поскольку они постепенно нарабатывают доказательную базу для своих методик, отказываясь от тех, чья эффективность оказывается неподтверждённой. Совместное использование эффективных методик основной и традиционной медицины принято называть *интегративной медициной*, без которой светлое будущее мировой медицины не видится возможным, что согласуется с заявлением[1] Всемирной организации здравоохранения, согласно которому традиционная медицина является важной и часто недооценённой частью системы здравоохранения в целом и медико-санитарной помощи в частности.

Как известно, бактерии были открыты только в конце XVIII века, возбудитель чумы – в конце XIX века, а эффективное средство лечения (антибиотики) появилось лишь в середине XX века, ознаменовав собой так называемую эру антибиотиков, в которую нам посчастливилось жить. Однако, как мы помним, чума существовала с давних времён и на территории очагов чумы всё это время жили люди, которые выработали свои собственные правила сосуществования с этой инфекцией. Поэтому видится правильным рассмотреть традиционную медицину народов, живших на территории древних очагов, где чума появилась, и начнём мы это небольшое путешествие в мир традиционной медицины со страны снегов, долгое время закрытой от посторонних глаз, – Тибета.

Традиционная тибетская медицина сформировалась под влиянием буддизма, поэтому, помимо привычных диагностики и лечения, включает буддийскую философию, что выражается в представлении о том, что причиной всех болезней являются три яда – заблуждение (неведение), жадность (привязанность) и отвращение (ненависть)[2], которые, в свою очередь, нарушают баланс трёх начал (дош):

---

[1] WHO traditional medicine strategy: 2014–2023.

[2] Состояния (дефекты), присущие от рождения всем живым существам, являющиеся первопричиной страдания и перерождения всего живого. Изображаются в виде трёх животных (свиньи, птицы и змеи), кусающих друг друга за хвост, что символизирует их взаимопричинность. Так, мы желаем получать только то, что нам нравится (птица – жадность), не хотим получать то, что нам не нравится (змея –

བད་ཀན། (baekan) – холод («желчь»)

མཁྲིས་པ། (tripa) – жар («слизь»)

རླུང་། (loong) – ветер («энергия»)

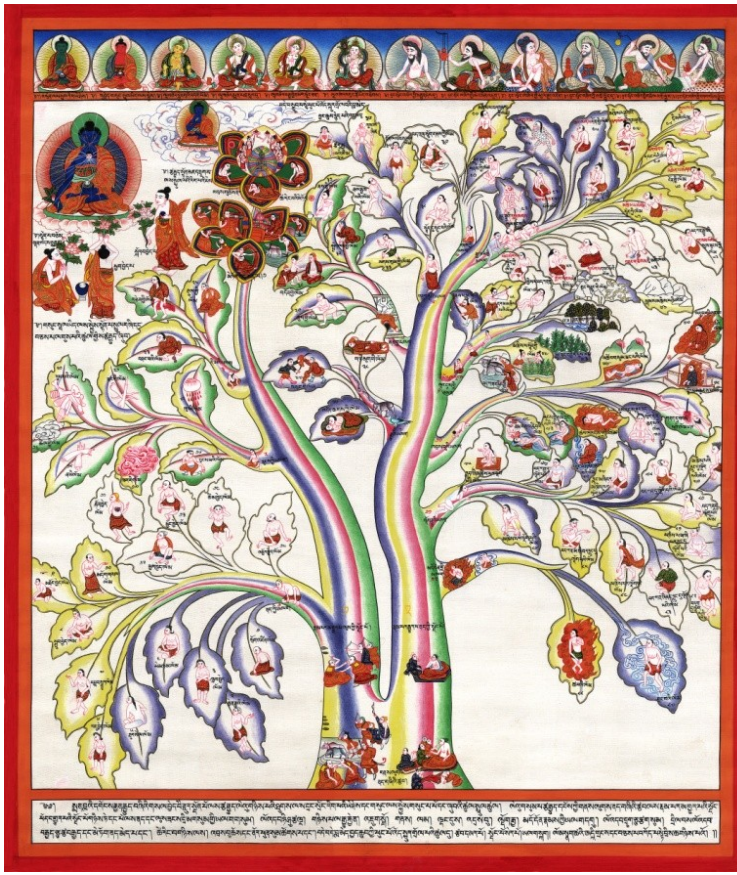
Восстановление баланса дош (здоровье) осуществляется посредством лечения. И поскольку считается, что медицинские знания были переданы Буддой Медицины, работа эмчи́ (врача) базируется на сострадании и искреннем желании помочь больному. Диагностика включает в себя анализ симптомов, характер пульса, физические характеристики мочи (цвет, запах, вид пузырьков при взбалтывании), а также разговор с пациентом (анамнез), на основании которых назначается лечение, включающее, с одной стороны, изменение образа жизни (мысленные практики и диеты), а с другой – приём препаратов на основе трав и минералов (в виде порошков) и в тяжёлых случаях – прижигание активных точек.

Чума (тиб. ཇི་རིམས – jhi rim) относится к болезням རིམས (rim), то есть тем болезням жара (преобладает начало «жар»), что передаются от человека к человеку. В «Чжуд-ши»[1] (тиб. རྒྱུད་བཞི – четыре тантры; V век), основе тибетской медицины (Рис. 23.1), болезнь названа གཉན་རིམས (nyen rim), что указывает на второе название གཉན་ཕྱི་དུག་ནག་པོ། (nyen chi thuknagpo, букв. «чёрный яд–ньен, пришедший извне»). В Главе 23 «Тантры наставлений "Чжуд-ши"» сказано, что когда люди будут совершать недобродетельные поступки из-за жадности, вредить друг другу, проклинать, то «эти действия вызо-

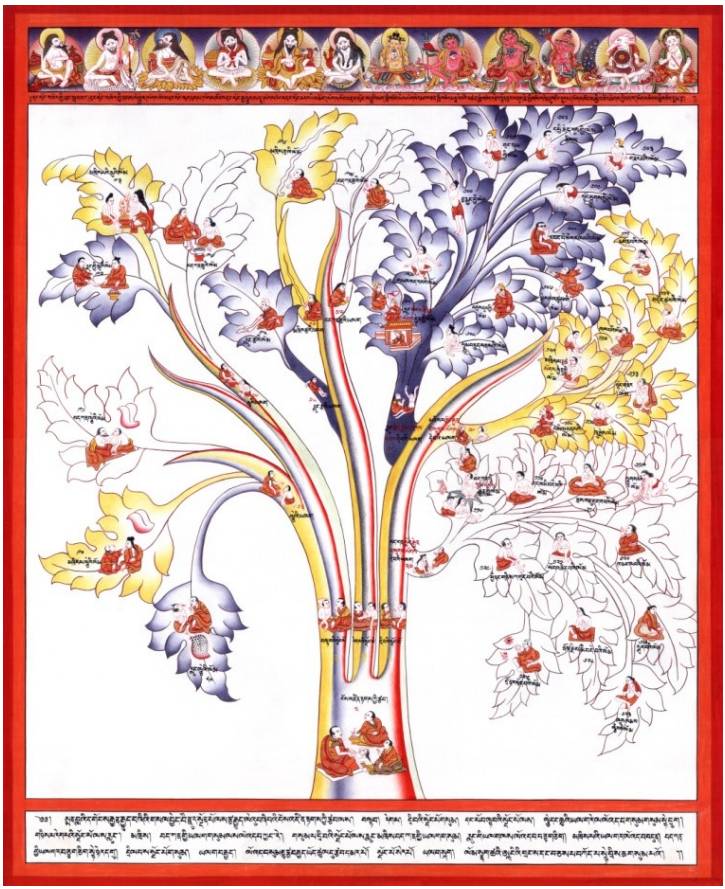
---

отвращение), и, наконец, мы верим в то, что можем получать только то, что нам нравится, и не получать то, что нам не нравится (свинья – заблуждение). В противоположность этому, для избавления от трёх ядов необходимо не допускать их, а также развивать в себе три благих корня – мудрость, щедрость и сострадание.

[1] Передача наименований на кириллице и латинице отличаются, поскольку российские тибетологи начала XX века, сформировавшие правила транслитерации на кириллицу, ориентировались на монгольское произношение тибетских наименований, тогда как при более позднем формировании правил транслитерации на латиницу англоговорящие тибетологи ориентировались на нормы произношения литературного тибетского языка с опорой на лхаский диалект. В настоящем издании все названия будут приведены на языке оригинала, транслитерация названий трактатов будут приведена кириллицей, а транслитерация остальных названий – латиницей.



Танка «Древо медицины»,
образно изображающее структуру тибетской медицины
«Атлас тибетской медицины» (№2)
Любезно предоставлено The Dharmapala Thangka Centre Kathmandu (Непал)
Представляет собой два ствола, символизирующих здоровье и болезни. Левый ствол (здоровье) имеет три ветви, показывающие работу здорового человеческого тела. На ветвях показаны три доши (холод, жар и ветер), семь сил тела (сок пищи, кровь, мясо, жир, кости, костный мозг и семя) и три нечистоты (кал, моча и пот), нормальное функционирование которых приводит к здоровью и долголетию (два цветка вверху), а также созреванию трёх плодов (преуспевание в карме, богатство и счастье). Правый ствол (болезни), содержащий в основе сцену приёма больного врачом, включает девять ветвей – причина болезней, условия их развития, пути проникновения, места поражения, пути перемещения в теле, исход, изменение в течение времени, а также «резюме», в котором все болезни сводятся к двум видам жара и холода



Танка «Древо диагностики»,
образно изображающее основные методы диагностики
«Атлас тибетской медицины» (№3)
Любезно предоставлено The Dharmapala Thangka Centre Kathmandu (Непал)
Представляет собой три ствола, символизирующих визуальный осмотр, исследование пульса и разговор (сбор анамнеза). Левый ствол (осмотр) разделяется на две ветви – осмотр языка и осмотр мочи. На ветвях показаны вид языка и мочи при расстройстве дош. Средний ствол (исследование пульса) разделяется на три ветви, на которых показаны виды пульса при расстройстве дош. Правый ствол (разговор) разделяется на три ветви, символизирующие доши, на которых показаны симптомы, бывающие при расстройстве одного из дош

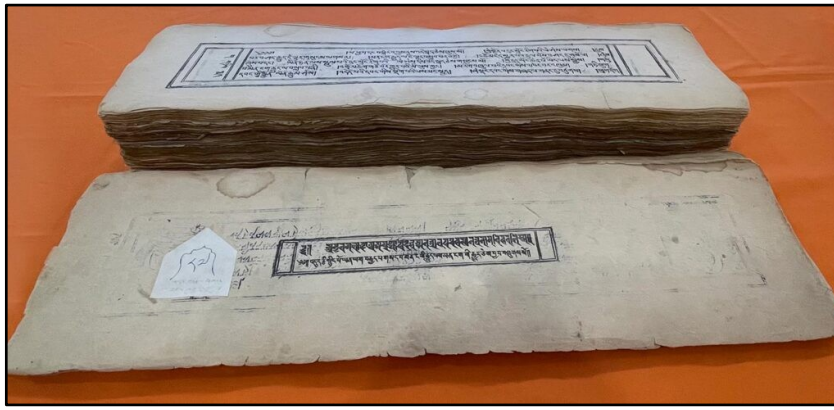
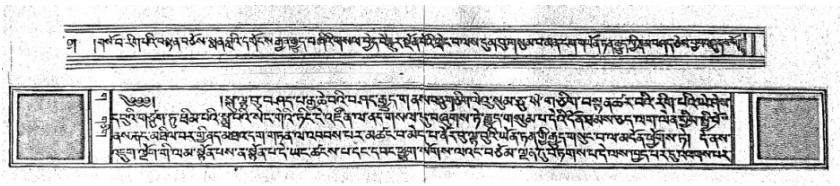


Рис. 23.1. *Трактат «Чжуд-ши»*
Хранится в Институте тибетской медицины и астрологии Мен-ци-кханг

вызовут беспокойство у таких небесных существ, как ма-мо и мха-и, и они начнут выдыхать болезни».

В трактате «Вайдурья-онбо» (тиб. བཻདཱུརྱ་སྔོན་པོ – «Гирлянда голубого берилла»; XVII век; Рис. 23.2)[1], дополнительно сообщается, что «дух болезней» в виде облаков, содержащих в себе срин (небольшие болезнетворные агенты, «черви»), спускается на города. Там они в виде «запаха болезни, грязи и пыли» заражают человека либо через нос, либо через загрязнённые пищевые продукты. Таким образом, мы видим описание двух путей заражения – воздушно-капельного и алиментарного. При этом под загрязнёнными продуктами, вероятно, имеется в виду их неправильное приготовление. Далее, от больного в виде «испарений болезни» они могут передаться другому человеку. Интересно, что срин по описанию очень похожи на

[1] Написан в 1687–1688 годах деси (регентом) Тибета Сангъе Гьяцо (1653–1705); является первым известным комментарием к трактату «Чжуд-ши», обобщившим опыт различных медицинских школ. Трактат повторяет структуру «Чжуд-ши», но значительно превышает его по объёму. В нём подробно раскрывается значение многих терминов и понятий, содержатся многочисленные дополнения по вопросам общей и частной патологии и фармакологии, излагаются мнения авторов различных трактатов, в том числе написанных до создания «Чжуд-ши». «Вайдурья-онбо» является наиболее авторитетным медицинским трактатом среди народов Забайкалья, исповедующих буддизм. Его особенностью является существующее иллюстративное приложение на 77 танка (картинах), известное как «Атлас тибетской медицины».



▲ ***Рис. 23.2.*** *Титульная страница трактата «Вайдурья-онбо»*
Хранится в Институте монголоведения, буддологии и тибетологии Сибирского отделения Российской Академии Наук

▼ *Фрагмент танка, иллюстрирующий «жар рим»*
«Атлас тибетской медицины» (№42)
Любезно предоставлено The Dharmapala Thangka Centre Kathmandu (Непал)



бактерии: по форме они напоминают тонкие закруглённые медные иглы, которые «не обнаруживаются простым глазом», распространяясь «по крови моментально с головы до ног».

Симптомами болезни на начальной стадии, согласно «Чжуд-ши», являются озноб, плохая концентрация, головная боль, боль в суставах и спутанность сознания. Моча жёлтая и мутная, пульс пустой и частый. Болезнь проникает через кожу, проходя путь до лёгких и головы. Если она распространяется через почки, то бывают задержка мочи, боли в почках и пояснице. Затем, когда болезнь распространилась, моча окрашивается в цвет горчичного масла, становятся жёлтыми склеры, язык, виски и кожа, появляются горечь во рту, повышенный жар тела, бессонница, потеря аппетита. Беловато-жёлтый цвет приобретают ногти, дёсны, язык и губы. Боль в голове становится колющей, появляются трещины на языке и губах, зубной налёт, ощущение скручивания и болезненности на поверхности печени и желчного пузыря. Возможно появление сыпи на коже. От тела больного идёт неприятный запах, оно обесси-

лено и без «сияния». Если болезнь попала в лёгкие, то появляются покраснения глаз и красный цвет мочи, кашель с грязной мокротой. Поскольку «для созревания расстройства недостаточно времени», пациент умирает в течение семи или девяти дней.

Описанный симптомокомплекс в определённой степени похож на чуму. Действительно, болезнь чаще всего проникает через кожу (кожная форма), проходя путь до лёгких (лёгочная форма) и головы, хотя под последним понимается не менингеальная форма, а психомоторное возбуждение («бледность, головокружение, шум в ушах»). Отдельного внимания заслуживают описание последствий синдрома интоксикации (сухость губ, «меловой» язык) и такие редкие симптомы септической формы, как сыпь и анурия.

Вместе с тем в тексте нет указания на появление бубона, а также на некрозы конечностей, которые бывают при септической форме. Однако тут нужно оговориться, что описание бледности ногтей может косвенно указывать на бледность дистальных конечностей, возникающую из-за тромбоза мелких сосудов и являющуюся предвестником некроза. Кроме того, добавление གཉན (nyen, букв. «чёрный яд», т. е. некротическая язва) в названии болезни может быть косвенным указанием на бубон, а болезнь nyen является особенной формой болезней жара рим. Так или иначе, уже в трактате «Маннаг-лхантаб» (тиб. མན་ངག་ལྷན་ཐབས – «Дополнение к "Тантре наставлений"»; XVII век)[1], про болезнь nyen даётся уточнение, что из «мяса, костей и сосудов наружу выглядывает [нечто, напоминающее] вазу», что по сути и является описанием бубона. Кроме того находим, что условием заражения больного является проживание в определённой местности, сезон года и образ жизни, под которым понимается «неаккуратное приготовление пищи», что указывает на эпидемиологию процесса заражения и, в частности, на понимание при-

[1] Написан в 1690–1961 годах деси (регентом) Тибета Сангъе Гъяцо (1653–1705); является практическим руководством по клинике и терапии, дополняя и расширяя «Тантру наставлений "Чжуд-ши"», чтобы она была ясной даже «для индивидуумов низких способностей». В современной тибетологии трактат принято считать экспериментальным, хотя он и явился наиболее поздним творением автора, который систематизировал наиболее прогрессивные тибетские знания той эпохи. Полное название: «Дополнение к "Тантре наставлений восьмичленного сущностного нектара, подобного драгоценности, преодолевающей страдания, и мечу, пресекающему аркан преждевременной смерти"».

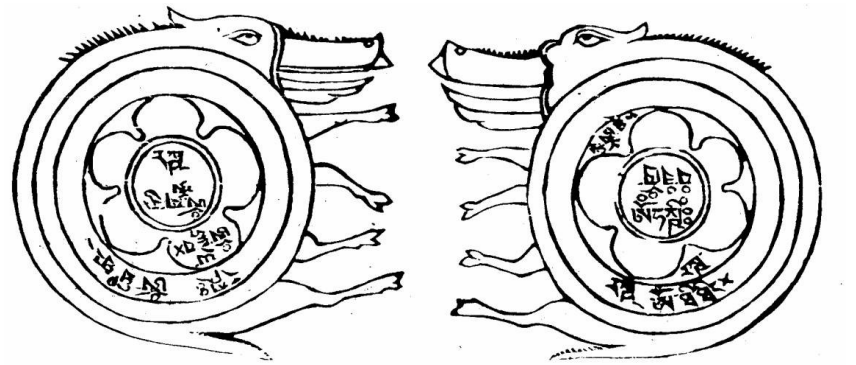


Рис. 23.3. *Защитный амулет из трактата Маннаг-лхантаб. Хранится в Институте монголоведения, буддологии и тибетологии Сибирского отделения Российской Академии Наук*

родной очаговости, к которому западная медицина придёт только в XX веке (напомним: основоположником теории природной очаговости является Евгений Никанорович Павловский).

Развитием идеи о возможности передачи болезни от человека к человеку является указание на то, что поскольку болезнь очень заразная, эмчи должны быть осторожны и изготовить для себя защитный амулет (Рис. 23.3). И хотя в тексте об этом нет специальных указаний, по общему правилу любой, кто заболевал болезнями жара рим, подлежал изоляции.

В трактате «Лхантаб-ченгйаб-данче» (ལྷན་ཐབས་མཆན་རྒྱབ་དང་བཅས; кон. XVIII века)[1], который является дополненной версией трактата «Маннаг-лхантаб», читаем, что эта болезнь передаётся особым видом срин, которые называются par-pa-ta, и они, кроме прочего, мешают определению названия болезни, её клинических форм и «путей внедрения».

[1] Написан в 1789 году в Амдо. Представляет собой трактат «Маннаг-лхантаб» с дополнениями, написанными эмчи Чойдже Лобсанг Вангйелом, являясь практическим руководством по лечению болезней. Попав из Амдо в Агинский дацан (Бурятия), стал самым издаваемым и популярным среди бурятских эмчи.

Вместе с тем для лечения каждой формы болезни предложены препараты. Рассмотрим составы препаратов, описанные в Главе 23 «Тантры наставлений "Чжуд-ши"». При начальной стадии предлагается давать больному препарат མ་ནུ་བཞི་ཐང (ma nu bzhi thang) или отвар སླེ་ཏྲེས་ལྔ་ཐང (sle tres lnga thang). В первый входят[1]:

- ma nu – девясил кистистый, или пушкара (*Inula racemosa*),
- kan ta ka ri – бузина сибирская (*Sambucus sibirica*),
- sle tres – гудучи, или тиноспора сердцелистная (*Tinospora cordifolia*),
- sga-skya – гедихиум колосистый (*Hedychium spicatum*).

Во второй:

- sle tres – гудучи, или тиноспора сердцелистная (*Tinospora cordifolia*),
- a ru ra – миробалан хебула, или терминалия чебула (*Terminalia chebula*),
- bar u ra – бибхитаки, или терминалия беллирийская (*Terminalia bellirica*),
- skyu ru ra – эмблика лекарственная (*Phyllanthus emblica*),
- rya tig – сверция чирата (*Swertia chirata*).

При «средней стадии, когда болезнь распространилась», предлагается давать больному отвар, включающий: ཏིག་ཏ (tig ta), གསེར་མེ་ཏོག (dser me tog, момордика кохинхинская, или гак (*Momordica cochinvhinensis*)), དེ་བ (de ba, горечавка крупнолистная (*Gentiana macrophylla*)), པར་པ་ཏ (par pa ta, гипекоум прямой (*Hypecoum erectum*)), ལི་ག་དུར (li ga dur, бадан язычковый (*Bergenia ligulata*)) и ཨ་རུ་ར (a ru ra, терминалия хебула). Если болезнь сильно прогрессирует, то следует добавить ག་ཌུར (ga bur, камфорное дерево), གི་ཝཾ (gi wam, безоар), ཅུ་གང (cu gang, бамбуковая манна), གུར་ཀུམ (gur kum, шафран посевной (*Crocus sativus*)), ཐོང་ང་དཀར་ཐོ (bong nga dkar, борец разнолистный, или аконит (*Aconitum heterophyllum*)), ཏིག་ཏ (tig ta), смешанные с ཀ་ར (ka ra, сахар).

[1] Рецептуры препаратов приведены по: Кособуров А. А. *Рецептурник Менцикана. I Избранные рецепты тибетской медицины*, Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2005, 96 с.

Отдельного внимания заслуживает состав, применяемый, «если рим попал в лёгкие», и включающий: ཙན་དན (tsan dan, сандал белый (*Santalum album*)), གུར་གུམ (gur kum, шафран посевной), ཅུ་གང (cu gang, бамбуковая манна), སྐེར་ཤུན (skyer shun, луб барбариса (*Berberis*)), ཤིང་སྨངར (shing mngar, солодка уральская (*Glycyrrhiza uralensis*)) и ཝོང་ང་དཀར་ཟི (bong nga dkar, борец разнолистный), смешанные с ཀ་རa (ka ra, сахар).

Свойства компонентов приведены в Таблице 23.1. Следует отметить, что компонент རྟིག་ཏ (tig ta) к настоящему времени не идентифицирован, однако наиболее вероятно, это растение из родов горечавка (*Gentiana*) или сверция (*Swertia*) семейства горечавковые (*Gentianaceae*), а безоар представляет собой камнеподобную массу, обнаруживаемую в желудочно-кишечном тракте некоторых животных, в частности, безоаровых козлов (*Capra aegagrus*). В древности (напомним: трактат Чжуд-ши относится к V веку) безоару приписывались уникальные, можно сказать, магические свойства. Так, считалось, что он способен спасать от ядов, ввиду чего он и получил своё название: перс. پادزهر (pad-zahr, «противоядие»). Вероятно, именно по этой причине его использовали в настоящем составе. Сахар используется в качестве связующего компонента, а также, вероятно, чтобы повысить вкусовые качества препарата, содержащего горькие растения.

Особенностью приведённых препаратов, в первую очередь, является их антибиотическая активность, а также противовоспалительная и протекторная. Следует отметить, что препараты, применяемые на начальной стадии заболевания, обладают нейро-, кардио- и гепатопротекторным действием, стимулируют фагоцитарную активность, активацию Т-киллеров и дифференцировку В-лимфоцитов, тогда как препараты, применяемые «когда болезнь распространилась», обладают более выраженным нефро- и гепатопротекторным, муколитическим и противокашлевым действиями, снижают содержание липопротеинов в крови (напомним: бактерия с помощью pH6-антигена покрывает аполипопротеином В для уклонения от действия иммунной системы), что в целом соответствует патогенетическим особенностям протекания чумной инфекции.

Табл. 23.1. Свойства растительных компонентов препаратов тибетской медицины

Растение	**Проявляемая активность**	**Активные вещества**
Девясил кистистый (*Inula racemosa*)	противовоспалительная, *антибиотическая*	сесквитерпеновый лактон
Бузина сибирская (*Sambucus sibirica*)	кардиопротекторная, нейропротекторная	кверцетин
Гудучи (*Tinospora cordifolia*)	активация Т-киллеров, дифференцировка В-клеток (за счёт повышения уровня IL-6); антибиотическая, фагоцитарная (нейтрофилы и макрофаги)	
Гедихиум колосистый (*Hedychium spicatum*)	противовоспалительная (ингибирует высвобождение TNF-α, IL-1β и IL-6), обезболивающая, гепатопротекторная, *антибиотическая*	терпеноиды
Камфорное дерево или коричник камфорный (Cinnamomum camphora)		
Миробалан хебула (*Terminalia chebula*)	противовоспалительная (ингибирует высвобождение TNF-α, IL-1β и IL-6), кардиопротективная, гепатопротекторная, *антибиотическая*	галловая, хебуловая и неохебуловая кислоты
Бибхитаки (*Terminalia bellirica*)		
Эмблика лекарственная (*Emblica officinalis*)		
Сверция чирата (*Swertia chirata*)		ксантоны и их производные, алкалоиды, флавоноиды, терпеноиды
Момордика кохинхинская (*Momordica cochinchinensis*)	противовоспалительная	сапонины, сапонинные гликозиды, макроциклические пептиды
Горечавка крупнолистная (*Gentiana macrophylla*)	гастропротекторная, гепатопротекторная, *антибиотическая*	секоиридоидные гликозиды, ксантоны
Гипекоум прямой (*Hypecoum erectum*)	гепатопротекторная, желчегонная	алкалоиды
Бадан язычковый (Bergenia ligulata)	жаропонижающая, отхаркивающая, иммуномодулирующая, *антибиотическая*	полифенолы, флавоноиды, хиноны, стеролы, терпены, лактоны, бергенин

Продолжение Табл. 23.1.

Растение	**Проявляемая активность**	**Активные вещества**
Борец разнолистный (*Aconitum heterophyllum*)	**Ядовитое растение!**	
Бамбуковая манна (табашир), получаемая из стебля молодого бамбука (*Bambusa arundinacea* (Retz.) Willd)	противовоспалительная, гепатопротекторная, нефропротекторная	флавоноиды, фенольные соединения
Шафран посевной (*Crocus sativus*)	противовоспалительная, противокашлевая,	флавоноиды, антоцианы, сапонины, сафранал, кроцин
Сандал белый (*Santalum album*)	противовоспалительная, *антибиотическая*	α- и β-санталол, санталбиновая кислота, жирные кислоты
Луб барбариса (род *Berberis*)	гепатопротекторная, снижает содержание липопротеинов в крови (в частности, аполипопротеина В)	алкалоиды, флавоноиды, витамин С
Солодка уральская (*Glycyrrhiza uralensis*)	противовоспалительная, муколитическая, противокашлевая, *антибиотическая*	флавоноиды (в частности, ликвиритин), сапонины

Более того, следует отдельно отметить применение гудучи, стимулирующего фагоцитарную активность на начальной стадии инфекционного процесса, а также барбариса, снижающего содержание липопротеинов в крови при прогрессировании болезни, что указывает на достаточно глубокое понимание патогенеза. Нельзя обойти вниманием и бамбук, который обладает нефропротекторным действием, поскольку он применяется, только если болезнь сильно прогрессирует, а, как мы помним, значительные поражения почек бывают при длительном течении септической формы болезни. При прогрессировании болезни также применяются бадан язычковый и борец разнолистный, обладающие отхаркивающим действием, а «если рим попал в лёгкие», то бадан язычковый заменяется на солодку уральскую. С другой стороны, нельзя не отметить весьма нелогичную тенденцию к снижению количества растений, проявляющих антибиотическую активность, в составах препаратов. Так, в препаратах, применяемых на первой стадии, ≥75% компо-

нентов проявляют антибиотическую активность (3/4 для ma nu bzhi thang и 5/5 для sle tres lnga thang). В препарате, применяемом «когда болезнь распространилась», антибиотическую активность проявляют 71% (5/7) компонентов, а при прогрессировании болезни – уже 61% (8/13) компонентов. И, наконец, в препарате, применяемом, «если рим попал в лёгкие» только 50% (3/6) компонентов проявляют антибиотическую активность. Кроме того, следует помнить о токсических свойствах некоторых растений.

Известны и другие препараты, но в целях экономии драгоценного времени ограничимся только упоминанием ещё одного растения, которое называется སྦང་རྫི་དུ་བུ། (bang-zi-du-wu) или пероголовник (*Pterocephalus hookeri* (C. B. Clarke) Höeck). Растение интересно тем, что его применяли для лечения чумы ещё до появления трактата Чжуд-ши. Кроме того, как и многие растения тибетской медицины, с XIX века его используют в Китае (под названием 翼首草, yi shou cao) и даже включили в Китайскую фармакопею (1977)[1]. За счёт содержания иридоидов, тритерпеноидов и фенилпропаноидов переголовник обладает противовоспалительной, обезболивающей, иммуномодулирующей, нейропротективной активностью, проявляет антибиотичекую активность.



Рис. 23.4. *Ксилограф М-143 (буддийской сутры на старомонгольском языке), включённый в состав Музейного фонда Российской Федерации и хранящийся в Национальном музее им. Алдан-Маадыр Республики Тыва (лист 1а)*

[1] *Committee for the Pharmacopoeia of PR China, Pharmacopoeia of the People's Republic of China*, China Medical Science and Technology Press, Beijing, China, 1977.

Традиционная монгольская медицина сформировалась под влиянием тибетской, когда буддизм проник в Монголию в XIII веке, получив широкое распространение к началу XVII века. Монгольские эмчи переводили на монгольский язык тибетские трактаты, а также создавали сборники на их основе. Примером такого сборника может служить Ксилограф М-143[1]. Ввиду отсутствия титульного листа и колофона (последней страницы) название сборника и имя автора до нас не дошли (имеются лишь косвенное указание на то, что текст составлен не одним человеком, а при участии ещё кого-то). Первый лист (Рис. 23.4) ксилографа начинается словами: «В это время, когда неимоверно увеличилось число болезней и смертей, поскольку не оказалось способа и возможности тотчас же спастись от этого и возникла необходимость найти их, если вознамериться немного прояснить причину и обстоятельства болезней, то согласно 29-й главе "О простудных болезнях" лечебной (медицинской) сутры "Лхантаб", обычные люди в то время, когда заканчивается пять столетий, в силу того, что желают собственного благоденствия, сходят с пути наивысших, предаются десяти чёрным грехам»[2]. Из приведённого фрагмента видно, какую важную роль играл трактат «Маннаг-лхантаб».

Параллельно с переводами классических тибетских трактатов монгольские эмчи начали создавать собственные, написанные, правда, на тибетском языке, в которых отразили свой уникальный опыт, позволивший ввести в медицинскую практику как новые методы, так и новые лекарственные растения флоры Монголии. Говоря о традиционной монгольской медицине, мы будем рассматривать именно эти трактаты.

Монголы относили чуму к болезням «нян», то есть передающимся от человека к человеку (вспомним тиб. རིམས, rim). Согласно легенде, зимой, когда тарбаганы (монгольские сурки) находятся в зимней спячке, в их норы пробирается хорёк, что переносит чуму,

[1] Вид книги, отпечатанный ручным способом с деревянных матриц, представляющий собой отдельные листы, собранные в пачку. Ксилограф М-143 состоит из 11 листов и отпечатан на бумаге русского образца, вероятно, в одном из бурятских монастырей (дацанов). Примечательной особенностью данного ксилографа является система постановки диакритических знаков, отличная от принятой в традиционных монгольских ксилографах.

[2] Цит. по переводу Деляш Николаевны Мурзаевой и Риты Петровны Сумба.

но сам ею не болеет. Хорёк кусает тарбагана, и чумной яд, проникая в тело, спит до весны. Весной, когда тарбаган выйдет из норы, яд проснётся с первым громом и начнёт действовать. Заразиться человек может, если услышит голос тарбагана, коснётся его своей тенью, потрогает палкой или хотя бы вдохнёт его запах. В трактате «Четуй-ниннор» (тиб. གཅེས་བསྡུས་སྙིང་རྒྱ།; нач. XIX века)[1], Главе 89, читаем, что «существует заразная болезнь, возникающая в результате употребления в пищу мяса больного тарбагана». Она проявляется «болями в области коротких рёбер, [известна под названиями] пхйи баи над и рцибс тхунг лха мо», то есть «болезнь тарбагана» и (досл.) «короткое ребро богини». Интересно, что, несмотря на прямое указание, что болезнь возникает в результате «употребления в пищу мяса больного тарбагана», монголы продолжают употреблять в пищу сусликов и сурков, заражаясь от них чумой, причём последний известный случай заражения произошёл в августе 2023 года.

В трактате «Онцар-гадон-дэр-дзод» (тиб. ངམཚར་དགའ་སྤྲོན་གཉེར་མཛོད།; нач. XX века)[2], Главе 98, читаем, что заражение может происходить даже в результате «выслушивания писка [тарбагана] и т. п. О признаках: будет [ощущение] помрачения в голове, одышка, очень сильный жар под мышками, рвота коричневыми [массами], слабость, сердцебиение, над рёбрами возникают горячие набухания ужасной [формы (т. е. бубон), эта болезнь по своему течению]

[1] Написан на тибетском языке монгольским эмчи Лобсангом Чойпелом как свод наиболее важных сведений из различных медицинских трактатов. Полное название: «Драгоценность сердца – избранная суть: упорядоченное изложение разрозненной информации по распознаванию и лечению болезней, собранное из различных медицинских трактатов».

[2] Написан в 1921–1922 гг. на тибетском языке монгольским эмчи Чойжамцем в монастыре Им Хурэ и является последним авторитетным трудом по монгольской ветви тибетской медицины, суммирующим достижения тибетской, монгольской и бурятской медицины. По всей видимости, трактат адресован практикующим эмчи, поскольку не содержит глав по философии и теории медицины, представляя собой справочник по методам диагностики болезней с кратким их описанием и рецептурными прописями, в которых, среди прочего, можно встретить препараты, продававшиеся в дореволюционных российских аптеках. Полное название: «Сущность нектара бессмертия, объединившая множество трактатов медицинской науки под названием "Сокровищница дивного праздника, устраняющего страдания жара и холода"».

близка к сильным болезням гнйан (т. е. nyen)». Всё сказанное способствовало тому, что монголы избегали встреч с тарбаганами, а также выработали систему противоэпидемических мероприятий. Если в какой-то юрте заболевал человек, то входить и выходить из неё запрещалось. Снаружи ставился кордон, иногда вывешивался чёрный флаг. Вход сторожили до тех пор, пока из юрты шёл дым. Когда он переставал идти, что свидетельствовало о гибели всех обитателей, её поджигали. Случалось, что юрту оставляли несожжённой. В таком случае в неё не входили почти год, чтобы трупный воздух развеялся, поскольку, попав в нос, он обязательно приведёт к заражению. И хотя монголы для защиты смазывали ноздри ароматическими маслами[1], от трупного воздуха это не защищало.

В качестве лечения в трактате «Онцар-гадон-дэр-дзод» рекомендовано применять препараты གོ་རོ་ཙ་ན་བརྒྱད་པ། (go ro tsa na brgyad pa)[2] и གཉན་བཤལ་ཐོག་མདའ། (gnyan bshal thog mda) с добавлением пепла сожжённого кунжута. В состав первого препарата входят гипс с примесью глины, шафран посевной, зубчатка красная (*Odontites rubra*), горечавник бородатый (*Gentianopsis barbata*), сандал белый, глинистая охра, шлемник байкальский (*Scutellaria baicalensis*) и аконит разнолистный, а в состав второго – миробалан, молочай Палласа (*Euphorbia pallasii*), молочай аденохлора (*Euphorbia adenochlora*), ртуть, девясил высокий (*Inula helenium*) и клещевина обыкновенная (*Ricinus communis*)[3]. Несмотря на содержание растений, оказывающих лечебный эффект, многие из которых нам уже знакомы, эффективность предлагаемых препаратов видится сомнительной ввиду содержания ядовитых растений (молочая Палласа, молочая аденохлора, клещевины обыкновенной) и ртути, под которой, по всей видимости, понимается минерал киноварь (сульфид ртути).

---

[1] В трактате «Четуй-ниннор» предлагается «каждое утро пить смесь [растения] sgog [skya s] chang», то есть чесночный чханг (чай?).

[2] Исследователь этого трактата и переводчик на русский язык Андрей Александрович Кособу́ров (1961–2017) сообщает, что в прописи рецептуры препарата используются названия компонентов на санскрите (написанные тибетским алфавитом). И поскольку go ro tsa na это gi wang, то название препарата на тибетском будет gi wang brgyad pa.

[3] Рецептура препарата приведена по: Базарон Э. Г., Баторова С. М. *Рецептурные прописи тибето-монгольской медицины*, с. Верхняя Иволга: Издательство буддийского института «Даши Чойнхорлин», 2001, 176 с.

Далее автор предлагает проводить кровопускания из сосудов snod ka и dpung rca[1], если болезнь упала в rmen bu (лимфатические узлы), и «при появлении [у нарывов (?)] головок» (вероятно, созревания бубона) следует «всё тело [больного целиком] закопать в землю» (по шею)[2], дав ему настой трав. Также предлагается пить кипячёное верблюжье молоко с добавлением sgog skya (чеснок (*Фддшгь ыфешмгь*)) и сливочного масла. Весьма интересно автор заканчивает: «говорят, что очень [хорошо] предохраняют [от рассматриваемой болезни плоды (?) растения] brug shing или tsag – [так ли это на самом деле (?)], мне неизвестно». Оба растения не идентифицированы, но про первое из трактата «Дзейцхар-мигчжан» (кон. XVIII века)[3] известно, что оно излечивает кожные болезни, «произрастает в пади и повсеместно. Кожура ствола сине-зелёная, твёрдая. Чуть выше шиповника, brug shing вьётся по другим деревьям. Иногда это растение можно заменить корой берёзы». Как мы видим, по мере удаления от Тибета эмчи начинают искать замены растений на те, что произрастают в данном регионе. Так, среди растений, упомянутых в трактате, находим dkar po chig thub или пузырница (род *Physochlaina*), которая произрастает на открытых степных склонах холмов и за счёт содержания флавоноидов, кумаринов и иридоида обладает противовоспалительным и обезболивающим действием. Следует оговориться, что, по сообщениям врачей, которые работали в Монголии в 30-х годах прошлого века, монголы умирали не столько от чумы и иных инфекционных болезней, сколько от появлявшейся после выздоровления цинги, что было следствием недостатка витаминов из-за отсутствия в рационе овощей и фруктов.

---

[1] Под сосудом snod ka подразумевается срединная локтевая вена (v. mediana cubi) или плечеголовая вена / медиальная подкожная вена руки (v. Cephalica / basilic a mediana), а под сосудом dpung rca (rtsa) – плечеголовая вена (v. cephalica) или одно из её верхних ответвлений.

[2] Исследователь этого трактата и переводчик на русский язык Андрей Александрович Кособуров (1961–2017) полагает, что автор имеет в виду вытягивание испарений болезни (гноя?) землёй при созревании нарывов (появлении головок).

[3] Написан на тибетском языке монгольским гэгэном (монг. «блестящим») Жамбалдорчжэ в одном из монастырей Внутренней Монголии (совр. область в Китае) и является единственным иллюстрированным монгольским трактатом, содержащем сведения о теории медицины и лекарственном сырье. Полное название: «Восхитительное украшение глаз, возникшее в зерцале безошибочного распознавания лекарственной амриты».

Традиционная медицина бурят, монгольской народности, сформировалась под влиянием тибетской и монгольской, когда буддизм в XVI веке распространился до озера Байкал (Россия), где флора весьма богата грибами и ягодами, что защищает от цинги. Природные очаги чумы также отсутствуют, поэтому случаи чумы случаются редко. Интересно, что саму чуму буряты называли «бодо» (род. пад. бурят. «бодын» – крупный рогатый скот), включая в эту болезнь ещё и сибирскую язву, что напоминает нам о сложностях дифференциальной диагностики. Вместе с тем, охотясь на тарбаганов, буряты убивали только здоровых на вид животных, используя для этого ружья. Тушки убитых тарбаганов тщательно осматривались: в паховой области делались разрезы, чтобы оценить состояние лимфатических узлов, а на лапках – для оценки цвета крови. Если паховые лимфатические узлы были увеличены, либо если кровь была тёмного цвета и густая (застойная), тарбагана оставляли на месте.

Трактатов теоретического содержания бурятские эмчи не писали (по крайней мере, таковые не известны), однако в монастырях (дацанах) составлялись многочисленные сборники рецептур, которые именовались жо́рами (ман-жорами) и основывались на аналогичных монгольских сборниках. Самым известным таким сборником является «Кунпан-дудзи-ньингпо» (нач. XX века)[1], содержащий рецептуры, основанные на растениях данной местности, поскольку, как и в случае монгольской медицины, бурятским эмчи также пришлось найти замены некоторым растениям. Так, в препарате ma nu bzhi thang («Чжуд-ши») сверция чирата заменяется горечавкой бородатой (*Gentiana barbata*), а эмблика лекарственная – плодами яблони ягодной (*Malus baccata*) или боярышника перистонарезанного (*Crataegus punnatifida*). Камфору заменяют резухой шершавой (*Arabis hirsuta*), шафран – ноготками лекарственными (*Calendula officinalis*), борец разнолистный – борцом бородатым (*Aconitum barbatum*) или борцом высоким (*Aconitum excelsum*), различные виды

[1] Составлен на тибетском языке предположительно Сумати Праджня (Дархан-Нансо Лубсан Шираб, ум. 1796) и с рядом дополнений издан только 12 апреля 1923 года в Агинском дацане, являясь самым крупным по объёму и поздним бурятским сборником, содержащим рецептуры на основе растений, произрастающих в данной местности. Полное название: «Полезный для всех экстракт амриты – большой рецептурный справочник тибетской медицины с указанием дозировок».

барбариса – барбарисом сибирским (*Berberis sibirica*), мормодику кохинхинскую – красодневом малым (*Hemerocallis minor*). Даже тибетскому «царю медицины», миробалану хебула, нашли замену, которой стал рябинник рябинолистный (*Sorbaria sorbifolia*).

Традиционная медицина калмыков, другого монгольского народа[1], сформировалась также под влиянием тибетской и монгольской. Калмыцким эмчи также пришлось найти замены некоторым растениям, что в конечном счёте привело к появлению собственных препаратов, важное место в которых заняла полынь и, в частности, полынь горькая (*Artemisia absinthium*). Она применяется при различных заболеваниях, найдя своё применение даже в «западной» медицине. Другим важным средством является кумыс, кисломолочный напиток, изготавливаемый из кобыльего молока и проявляющий антибиотические свойства. Вместе с тем ввиду небольшого количества эмчи и гораздо большего количества различного рода безграмотных знахарей, калмыцкая медицина не предложила каких-то собственных методов борьбы с чумой, называемой «маальг» и «тарвһн тахл» (калм. тахал – «эпидемия»), за исключением изоляции больных животных.

* * *

В библиотеке дворца Потала[2] среди множества книг сидит человек, беседуя на различные темы с другим, одетым в монашеские одежды жёлтого и красного цветов. Глаза собеседника, обрамлённые оправой очков, наполнены мудростью и участием, а лучезарная добродушная улыбка озаряет лицо. Рядом с ним, положив свою белую, как снег в Гималях, голову на лапы, величественно сидит снежный лев. Взгляд пронзителен и печален. Несмотря ни на что, они пребывают здесь, вечно устремляя свой взор в бесконечность…

[1] Относятся к ойратской группе и являются единственными представителями буддийской культуры на Западе.

[2] Дворец в городе Лхаса, построенный в 637 году царём Тибета Сонгцэ́н Гампо́ (в нынешнем виде в XVII веке – по инициативе Далай-ламы V). Служил зимней резиденцией Далай-лам до 1939 года, когда из-за вторжения народно-освободительной армии Китая и последующей оккупации Тибета Далай-лама XIV был вынужден бежать в Индию. Там же, в городе Дхарамсала, по настоящее время пребывает Правительство Тибета в изгнании (Центральная Тибетская Администрация).

24 ЛЕЧЕНИЕ

В 951 году чума свирепствовала в японском городе Кио́то. В те дни основатель храма Рокухарами́цу-дзи монах Ку́я[1] изготовил статую бодхиса́ттвы[2] милосердия Каннóн[3], которую возил по городу, подавая больным особый чай, приготовленный из маринованных слив и морских водорослей, заваренных на горящем бамбуке, выложенном в форме лотоса. Насколько это снадобье было эффективным, судить сложно (хотя имеются сведения об антибиотических свойствах водорослей), но остановимся чуть подробнее на традиции публичного выставления статуй во время эпидемий. Само по себе это действие не ново и присутствует во многих культурах. Так, изумрудный Будда, ныне хранящийся в тайском храме Ват Пхракэу, множество раз выставлялся во время различных бедствий, таких как эпидемии чумы и холеры, пока король Моргу́т (Рама IV) не запретил это, сказав: «Болезни вызываются микробами, а не злыми духами или недовольством Будды».

Что же на западе? Живший в XIV веке Ги де Шолиа́к[4] сообщает, что для лечения чумы следует применять кровопускание, очищение (вероятно, слабительное), электуарии (лекарства, смешанные с мёдом) и сиропообразные настойки. Снаружи бубоны покрыть смесью из инжира, нарезанного лука, дрожжей и масла, благодаря чему они вскроются и заживут. Другой врач, Джéнтиле да Фоли́-

[1] 空也 (*Куя*), 903–972; буддийский монах периода Хэйан, основатель школы Куя (ветвь школы Тендай), известный также как Косё (яп. 光勝) и амидаистский святой (яп. 阿弥陀の聖). Изобретатель так называемой танцевальной молитвы (яп. 踊り念仏) к будде Амитабхе. Предположительно сын императора Дайго (885–930).

[2] Того, кто достигнув просветления, отказался от перехода в нирвану (вечную жизнь), чтобы помогать живым существам обретать просветление, то есть выходить из цикла страданий и перерождений.

[3] Почитаемое японскими буддистами воплощение Авалокитешвары, «будды сострадания»; статуя, о которой идёт речь, хранится в храме и выставляется для всеобщего поклонения один раз в двенадцать лет, в год дракона.

[4] Guy de Chauliac, 1298–1368; французский врач, «отец хирургии», личный врач римских пап Климента VI, Иннокентия VI и Урбана V. Автор знаменитого трактата Chirurgia Magna, который оставался основным учебником по хирургии до XVII века.

нью[1], предлагает натирать бубон бальзамом, состоящим из экстракта зонтичного растения (петрушки?), луковицы лилии и человеческих экскрементов, а внутрь употреблять териак[2].

Время шло, а единственным эффективным способом избежать массовой гибели людей оставались только противоэпидемические мероприятия, пока в 1890 году Эмиль Адольф фон Беринг и Китасато Сибасабуро не обнаружили[3], что в крови переболевших столбняком или дифтерией образуются вещества (антитоксины), которые обеспечивают иммунитет как самим заболевшим, так и тем, кому их кровь будет перелита. Так появилась первая дифтерийная сыворотка, за которую Эмиль фон Беринг в 1901 году будет удостоен Нобелевской премией по физиологии или медицине «за работу по сывороточной терапии, особенно её применению против дифтерии, благодаря которой он открыл новый путь в области медицинской науки и тем самым дал в руки врачей победоносное оружие против болезней и смерти»[4]. Конечно, первоначальный успех сыворотки был частичным, но с помощью Па́уля Эрлиха[5] были правильно рассчитаны дозировки и получены очищенные высококонцентрированные сыворотки, которые и вошли в клиническую практику.

---

[1] Gentile da Foligno, ум. 1348; итальянский врач, автор комментариев к «Канону медицины» ибн Сины (Авиценны). Является одним из первых европейских врачей, проведших вскрытие человека (1341). Скончался от чумы.

[2] Настой, известный со времён античности (греч. θηριον), применявшийся в качестве противоядия. Состоял из большого количества компонентов, среди которых можно встретить мясо гадюки, опиум, бобровую струю (т. е. пахучее вещество, выделяемое параанальными железами).

[3] Behring E., Kitasato S. *Über das Zustandekommen der Diphtherie-Immunität und der Tetanus-Immunität bei Thieren*. Dtsch Med Wochenschrift. 1890; 49:1113–1114; Behring E. *Untersuchungen ueber das Zustandekommen der Diphtherie-Immunität bei Thieren*. Dtsch Med Wochenschrift. 1890; 50:1145–1148.

[4] Вероятно, Нобелевский комитет счёл вклад Китасато Сибасабуро недостаточным, поскольку в совместной статье иммунизация против дифтерии упоминалась кратко, а идея о серотерапии была высказана Эмилем фон Берингом в самостоятельной статье, которая была опубликована через неделю после совместной.

[5] Paul Ehrlich, 1854–1915; германский и прусский врач еврейского происхождения, бактериолог, химик. Лауреат Нобелевской премии по физиологии или медицине (1908). Автор многочисленных работ по инфекционным болезням, иммунологии и онкологии, один из основателей современной химиотерапии. Во время обучения считался бунтарём, имел низкую успеваемость и среди друзей имел прозвище Доктор Фантаст.

Первая противочумная сыворотка была получена Александром Йерсеном. Как он сам напишет[1], свежая культура чумного микроба вводится лошади внутривенно (во избежание нагноения), «соблюдая все меры предосторожности во избежание эмболий. Уже через 6 часов после укола температура достигает 40°С, а иногда повышается до 41,5°С. Лошадь унылая, дрожит. Лихорадка держится несколько дней, постепенно снижается, при этом не наблюдается увеличения лимфатических узлов[2]. Инъекции проводят большими дозами, но через довольно отдалённые промежутки времени, так что животное полностью выздоравливает после каждой. Действительно, нередко возникают суставные отёки, синовиты, которые не нагнаиваются, но приводят к мучительной хромоте. Во время иммунизации лошади сильно теряют в весе, поэтому необходимо соблюдать осторожность, чтобы не слишком торопиться с прививками. Они реагируют на каждую из них, если доза достаточно сильная, но продолжительность реакции становится всё короче и короче». Через три недели после первой иммунизации из крови выделяют сыворотку. Как легко догадаться, выбор животного обусловлен, во-первых, тем, что лошади являются слабовосприимчивыми животными и в природе редко болеют, а, во-вторых, из них можно получить достаточное количество сыворотки (в лошади содержится 40–45 литров крови).

Первое применение сыворотки состоялось 26 июня 1896 года в городе Кантон (совр. Гуанчжоу, Китай). Первые симптомы болезни у 18-летнего китайца-семинариста по фамилии Цзе появились рано утром, а бубон и рвота не заставили себя долго ждать, предвещая скорый конец. Александр Йерсен ввёл пациенту по 10 мл сыворотки в 15, 18 и 21 час. Уже к полуночи состояние улучшилось, пациент уснул. К 6 утра он выглядел здоровым.

После столь грандиозного триумфа Александр Йерсен отправился подавлять эпидемию чумы в городе Бомбее (Индия), а уже в 1902 году академической карьере предпочёл уединённую жизнь во Вьетнаме, где любимым занятием стали тихие велосипедные прогулки. Его трудами в городе Нячанг заработала станция по произ-

[1] Yersin A. *Sur la peste bubonique (Séro-thérapie).* Ann Inst Pasteur (Paris). 1897; 1:81–93.

[2] Что, как мы помним, характерно для первичной септической формы заболевания, которая и была вызвана инъекцией бактерий в кровь.

водству сывороток, а также плантация гевеи бразильской (*Hevea brasiliensis*), из которой получали каучук для фирмы «Мишлен», чтобы станция могла себя финансово обеспечивать. Город Нячанг ранее уже упоминался – именно из него вернулся военнослужащий с чумным менингитом, а сама станция помогла спасти жизни многих вьетнамцев от чумы, разразившейся на фоне войны 1955–1975 годов. Александр Йерсен умер 1 марта 1943 года. Рядом с его могилой была возведена пагода, а в местных буддийских храмах – алтари, перед которыми местные жители возносят учёному молитвы, считая его бодхисаттвой мудрости, хотя он и был по вероисповеданию протестантом. Кроме того, его дух почитается как покровитель местности (вьет. thành hoàng) последователями вьетнамской народной религии.

В настоящее время противочумная сыворотка в клинической практике не используется ввиду сильных аллергических реакций, вызываемых большими количествами[1] чужеродного белка (лошадиными антителами), а также высокой эффективности только на начальных этапах инфекционного процесса. Однако имеются разработки по использованию моноклональных антител к капсульному антигену и к LcrV. Опыты[2], проведённые на мышах, показали эффективность как для профилактики (за 24 часа до заражения), так и для лечения бубонной и лёгочной форм чумы.

Нельзя не сказать несколько слов и о Китасато Сибасабуро. Живя на родине, в Японии, он руководил ликвидацией вспышек чумы, развивал систему санитарного надзора и воспитал целую плеяду выдающихся учеников, которым часто говорил, что *основы медицины заключаются в предотвращении болезней*! Сам, будучи учеником Роберта Коха, он построил синтоистское святилище в память об

[1] В Справочнике практического врача (1952) читаем, что сыворотка вводится «взрослым внутривенно 50-100 мл подкожно или межмышечно – не более 300 мл на одно введение: сыворотка должна вводиться многократно и возможно раньше – до 1,5 л на одного больного». Конечно, современного врача такая терапия может шокировать возможностью серьёзных постинъекционных осложнений (например, некроза).

[2] Andrianaivoarimanana V., Randriantseheno L. N., et al. *Potential human immunotherapeutics for plague*. Immunother Adv. 2021; 1(1):ltab020; DOI: 10.1093/immadv/ltab020.



Могила Александра Йерсена
с пагодой и подношениями (верхний ряд) в день поминовения (вьет. lễ giỗ), а также храм Линь Шон Фап Ан (chùa Linh Sơn Pháp Án; средний ряд), включающий кабинет Александра Йерсена (жёлтое здание), и храм Лонг Туйен (chùa Long Tиуền; нижний ряд) с алтарями и подношениями. Примечательно, что среди подношений встречаются хлеб и плавленый сыр. Деревенская община Суойзау, Вьетнам, 2019 год (любезно предоставлено Еленой Витальевной Гордиенко)

учителе в день его смерти[1]. Когда 13 июня 1931 года Китасато Сибасабуро умер, уже его ученики построили святилище в память о нём, которое, однако, сгорело в огне пожара во время Второй мировой войны. Тогда два святилища объединили, и до настоящего времени оно стоит на территории Института Китасато, окружённое лавровыми и кедровыми деревьями, некогда посаженными Робертом Кохом. Оба учёных почитаются как ками (божества-покровители) Института и всех, кто с ним связан.

Связанные открытием чумного микроба, такие разные по своей сути, знали ли Александр Йерсен и Китасато Сибасабуро, что их посмертная память будет столь схожа[2]?



Святилище Коха – Китасато (コッホ・北里神社)
на территории Института Китасато
(любезно предоставлено Эндо Руми)

[1] В качестве синтая (досл. «тело божества», главная святыня), хранящего часть духа Роберта Коха, Китасато Сибасабуро поместил прядь его волос, взятых у парикмахера во время визита Коха в Японию. Тут следует уточнить, что по синтоистским представлениям волосы заключают в себе та́ма, то есть жизненную энергию, дух их обладателя. Синтая Китасато Сибасабуро нет, поскольку считается, что его дух полностью обитает в святилище.

[2] В Японии вплоть до реставрации Мэйдзи (кон.XIX века) существовал синкретизм (т. е. объединение) синтоизма и буддизма.

О свойствах плесени и дрожжевых грибков человечество знало со времён глубокой древности и использовало их в медицинской практике. Так, до нас дошли сведения о применении в лечении ран плесневого хлеба, а исследование египетских и нубийских мумий показало высокое содержание в них тетрациклина, источником которого, вероятно, стало пиво[1]. Во второй половине XIX века врачи вплотную занимаются изучением свойств плесневых (мицелиальных) грибов, которых тогда относили к низшим растениям. В 1870-х годах Уильям Ро́бертс[2] отметил, что *Penicillum glaucum*, использующийся для производства некоторых сортов голубого сыра, не подвергается бактериальной контаминации (т. е. загрязнению бактериями)[3], а Алексей Герасимович По́лотебнов[4] и Вячеслав Авксентьевич Манассе́йн[5] рекомендовали использовать его для лечения кожных заболеваний.

Параллельно с этим Пауль Эрлих, заметив, что одни красители способны окрашивать бактерии, а другие нет, начал поиски синтетического лекарства от бактериальных инфекций. Сосредоточившись на поисках соединения, активного в отношении возбудителя сифилиса (*Treponema pallidum*), к 1907 году, совместно с Альфредом Бертха́ймом[6], было синтезировано соединение 606 (нем. Ehrlichschen Präparat 606). Испытания соединения проводились совместно с Хата Сахачиро и были завершены к 1909 году. Хотя соединение и имело целый ряд противопоказаний, в конце 1910 года, под названием Salvarsan оно поступило в продажу. Через некоторое время им удалось синтезировать более безопасное соединение 914, получившее название Neosalvarsan. Уже в середине XX века оба препарата вышли из употребления, тем не менее став первыми синтетическими антибиотиками.

---

[1] Amelagos G. J. *Take two beers and call me in 1,600 years: ancient Nubians and Egyptians had a way with antibiotics*. Natural History. 2000; 109(4):50–53.

[2] Sir William Roberts, 1830–1899; английский врач, хирург, диетолог.

[3] Близкий родственник этого грибка, *Penicillum chrysogenum* (ранее известный как *Penicillum notatum*), проявляет устойчивость даже к возбудителю сибирской язвы (*Bacillus anthracis*).

[4] 1838–1907; российский врач, основоположник российской дерматологии.

[5] 1841–1901; российский врач, редактор газеты «Врач», на страницах которого вёл борьбу со знахарством. Занимался вопросами этики и деонтологии.

[6] Alfred Bertheim, 1879–1914; германский химик.

Эра природных антибиотиков началась благодаря тому, что в современных лабораториях строго запрещено, – беспорядку. В 1929 году на одной из забытых чашек с культурой *Staphylococcus aureus* Александр Флéминг [1] обнаружил колонии грибка *Penicillum notatum*, вокруг которых имелись чёткие зоны лизиса, то есть прозрачные области, где бактерии не росли (Рис. 24.1). Похожее он уже видел, когда несколькими годами ранее посеял слизь из собственного носа, что привело к открытию лизоцима. Выделенное от грибков вещество, названное Penicillin, было значительно эффективнее существовавших тогда аналогов, но Александр Флеминг не был химиком и поэтому не мог получить чистое и стабильное соединение, а опубликованная им статья[2] около десяти лет не вызвала должного отклика в медицинском сообществе. Только в 1940 году, когда сам Александр Флеминг оставил попытки синтезировать вещество, несмотря на сложности военного времени, Говарду Уóлтеру Флóри[3] и Эрнсту Борису Чéйну[4]

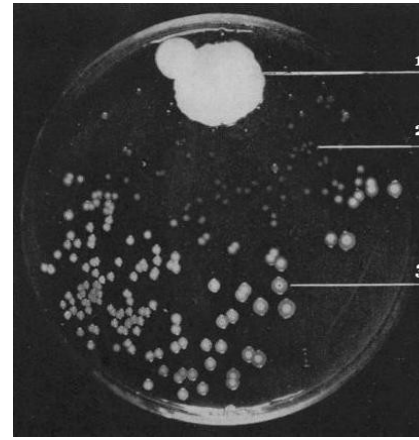


Рис. 24.1. *Чашка Петри с нормальными (3) и лизированными (2) колониями стафилококка, и проросшим грибком Penicillum notatum (1), благодаря которой Александр Флеминг открыл первый в мире антибиотик (по Fleming A., 1929; публикуется по лицензии Всемирной организации здравоохранения)*

[1] Sir Alexander Fleming, 1881–1955; британский врач, бактериолог. Лауреат Нобелевской премии по физиологии или медицине (1945). Член Лондонского Королевского общества (1943). Создатель первого антибиотика.

[2] Fleming A. *On the Antibacterial Action of Cultures of a Penicillium, with Special Reference to their Use in the Isolation of B. influenzæ*. Br J Exp Pathol. 1929; 10(3):226–236.

[3] Sir Howard Walter Florey, 1898–1968; австралийский врач. Лауреат Нобелевской премии по физиологии или медицине (1945). Член Лондонского Королевского общества (1941). Создатель первого антибиотика.

[4] Ernst Boris Chain, 196–1979; германский биохимик еврейского происхождения. Лауреат Нобелевской премии по физиологии или медицине (1945). Член Лондонского Королевского общества (1949). В 1933 году, на фоне роста антисемитских на-

(с коллегами) в стенах Оксфордского университета удалось синтезировать стабильное вещество нужной чистоты.

12 февраля 1941 года констеблю Альберту Александ́еру, получившему тяжёлые травмы в результате бомбардировок Оксфорда, было введено 160 мг пенициллина. Примерно за сутки его температура снизилась и считавшийся безнадёжным пациент пошёл на поправку. Однако синтезированного вещества было мало и, несмотря на извлечение его остатков из мочи пациента, к пятому дню пенициллин закончился. В отсутствие лечения к 15 марта пациент скончался. Вместе с тем уже к 1945 году благодаря усилиям американских производителей каждый раненый солдат имел возможность лечиться пенициллином. В том же году все трое были удостоены Нобелевской премии по физиологии или медицине «за открытие пенициллина и его целебного действия при различных инфекционных заболеваниях». Пенициллин оказался активен против большого количества возбудителей, но бессилен против возбудителя чумы.

Следует понимать, что к лету 1942 года имевшегося в распоряжении Великобритании и США пенициллина хватило бы на лечение только десяти пациентов. Поэтому в том же году в СССР Зинаида Виссарионовна Ермо́льева[1] и Тамара Иосифовна Бале́зина[2] из грибка *Pinicillium crustosum* (обнаружен второй в одном из зданий) получили более эффективный аналог пенициллина («пенициллин-крустозин ВИЭМ») и наладили его серийное производство, что позволило спасти жизни тысячам советских солдат.

Вместе с тем о вкладе Тамары Иосифовны Балезиной часто забывают, отдавая все лавры её руководителю, но этот случай не

строений в нацистской Германии, переехал в Великобританию. Создатель первого антибиотика.

[1] 1897/1898–1974; советский (российский) врач, бактериолог, эпидемиолог. Член Академии медицинских наук СССР. Лауреат Сталинской премии (1943). Автор работ по чуме и холере, создатель вакцин. В 1943 году с помощью холерного бактериофага спасла осаждённый город Сталинград (ныне – Волгоград).

[2] 1913–2010; советский (украинский) врач, бактериолог, вирусолог. В 1944 году защитила диссертацию под названием «Получение, исследование и клиническое применение пенициллина» на соискание учёной степени кандидата медицинских наук.

единственный. В 1943 году Альберт Шац[1], работающий в лаборатории Зельмана Абрахама Ва́ксмана[2], начал поиски соединения, которое было бы активно против тех микроорганизмов, которые были устойчивы к пенициллину, особенно возбудителя туберкулёза (*Mycobacterium tuberculosis*). Работая один в изолированном подвале (что в настоящее время также запрещено) с наиболее вирулентным штаммом того времени (*M. tuberculosis* H-37), спустя всего три месяца, 19 октября 1943 года, он смог выделить такое соединение, назвав его стрептомицином, поскольку оно продуцируется бактериями *Streptomyces griseus*. Уже в 1947 году стрептомицин вошёл в клиническую практику.

12 сентября 1948 года Альберт Шац и Зельман Абрахам Ваксман в качестве изобретателей получили патент на стрептомицин (US 2449866), однако финансовые махинации последнего привели к судебному разбирательству, по результатам которого Альберт Шац получил право на причитающееся вознаграждение как соавтор патента. Финансовый вопрос поссорил двух учёных, что в конечном счёте привело к тому, что в октябре 1952 года Нобелевской премией по физиологии или медицине «за открытие стрептомицина, первого антибиотика, эффективного против туберкулёза» был удостоен только Зельман Абрахам Ваксман, а про Альберта Шаца все забыли. Только в 2005 году журнал The Lancet напишет[3], что «Нобелевский комитет допустил серьёзную ошибку, не признав Шаца» (и как тут не вспомнить историю жизни Китасато Сибасабуро?).

Стрептомицин, изобретённый как средство для лечения туберкулёза, уже в 1948 году стал использоваться для лечения чумы, став первым антибиотиком, активным в отношении чумного микроба.

---

[1] Albert Schatz, 1920–2005; американский микробиолог, почвовед. В 1945 году защитил диссертацию Streptomycin, an Antibiotic Produced by *Actinomyces griseus* (англ. «Стрептомицин – антибиотик, продуцируемый *Actinomyces griseus*») на соискание степени PhD.

[2] Selman Abraham Waksman, 1888–1973; украинский и американский биолог, химик. Лауреат Нобелевской премии по физиологии или медицине (1952). Член Национальной академии наук США (1942). В 1947 году сформулировал определение понятию «антибиотик».

[3] *The Nobel cause*, The Lancet Infection Diseases. 2005; 5(11):665; DOI: 10.1016/S1473-3099(05)70245-0.

В современной клинической практике по степени тяжести чуму разделяют на *лёгкую*, *средней тяжести* и *тяжёлую*.

Лёгкая форма наблюдается только у лиц, проживающих на эндемичных территориях, а также у вакцинированных[1]. Тяжёлая форма начинается внезапно и, как правило, имеет фульминантное течение.

Этиотропная терапия включает в себя применение антибиотиков, причём не только стрептомицина, но и представителей иных групп (разделённых на антибиотики первой и второй линии[2]). Следует помнить, что лечение пациентов осуществляют в специальных защитных костюмах, о которых подробнее будет сказано в Главе 28.

Препаратами первой линии у животных (кошек и собак[3]) являются доксициклин и гентамицин, причём второй применяется преимущественно при тяжёлых случаях. Доксициклин может использоваться для завершения лечения, а препараты пенициллинового и цефалоспоринового ряда не показали клинической эффективности. Клинических испытаний фторхинолонов не проводилось, но опыт их применения в энзоотичных регионах свидетельствует в пользу их эффективности. Дозы и продолжительность применения приведены в Табл. 24.1.

Препаратами первой линии у людей являются, например, стрептомицин, гентамицин, доксициклин и другие. Дозы, зависящие от формы заболевания, приведены в Табл. 24.2 (препараты первой линии выделены **жирным**). При выборе препарата (как для людей, так и для животных) следует учитывать данные тестирования на антибиотикорезистентность, которое проводится в отношении выделенной культуры (однако не забываем, что антибиотикотерапия назначается при подозрении на чуму **сразу**, то есть не дожидаясь идентификации возбудителя и его тестирования на антибиотикорезистнтность; после получения данных об антибиотикорезистентности лечение следует скорректировать).

---

[1] Напомним, что у вакцинированных заболевание может протекать бессимптомно (случай из Главы 16).

[2] Препараты второй линии применяют, когда заболевание не поддаётся лечению препаратами первой линии.

[3] Больные сельскохозяйственные животные, например, верблюды, лечению не подлежат (трупы сжигают).

На первый взгляд Табл. 24.1 и Табл. 24.2 могут показаться сложными и непонятными из-за большого числа условных обозначений. Однако после знакомства с графой «Примечание» внизу таблицы все они исчезают.

Рассмотрим на примере препарата стрептомицин из Табл. 24.2. Стрептомицин является препаратом первой линии, который возможно применять при фарингеальной форме чумы (на это указывает «*»). Основным способом применения является внутримышечное введение, однако имеются единичные сообщения о возможности внутривенного введения (на это указывают «< >»). При бубонной форме применяют 0,5 г антибиотика по два раза в сутки ровно одну неделю (т. е. «Д/К/П» из примечания). В случае детей (на это указывает «*») применяют дозу меньше, а именно 15 мг/кг, которые можно вводить внутривенно! Соответственно для лёгочной и септической форм применяют 0,52 г антибиотика по три раза в сутки десять дней.

Табл. 24.1. Схема антибиотикотерапии домашних животных

Препарат	**Способ применения**	**Схема лечения** (доза х продолжительность)
Доксициклин	per os	10 мг/кг х 14 дней
Гентамицин[1]	в/м п/к	2–3 мг/кг х 10 дней (3 раза в день)
Энрофлоксацин[1]	в/м п/к	5 мг/кг х 10 дней
Тетрациклин	per os	22 мг/кг х 14 дней (3 раза в день)
Хлорамфеникол	per os	50 мг/кг х 14 дней (2 раза в день)
Примечание: [1] инъекции могут быть предпочтительнее на острой стадии заболевания, поскольку позволяют избежать контакта с выделениями из полости рта, а также снизить риск укусов. После клинического улучшения возможен перевод на пероральную терапию. в/м – внутримышечно, п/к – подкожно, per os – перорально		

Табл. 24.2. Схема антибиотикотерапии (монотерапия) человека

Препарат (поколение)	**Способ применения**	**Схема лечения (Д/К/П)**	
		Бубонная форма	**Лёгочная и септическая формы**
Аминогликозиды			
Стрептомицин (I)* *возможно применение при фарингеальной форме	в/м <в/в>	0,5* / 2 / 7 *детям по 15 мг/кг; возможно в/в	0,52 / 3 / 10
Гентамицин (II)* *возможно применение при фарингеальной форме (**не рекомендуется** к применению в некоторых странах)	в/м в/в	0,16* / 3 / 7 *детям по 2,5 мг/кг	0,16 / 3 / 10
Тобрамицин (II)* *возможно применение при фарингеальной форме (**не рекомендуется** к применению в некоторых странах)	в/м	0,1* / 2 / 7 *детям по 4,5–7,5 мг/кг в сутки (в/в, в/м); при фарингеальной форме детям по 4,5–7,5 мг/кг в сутки, взрослым по 5–7 мг/кг один раз в сутки (в/в, в/м)	
	в/в		0,2* / 2 / 7 *детям по 4,5–7,5 мг/кг в сутки (в/в, в/м)
Амикацин (III)* *возможно применение при фарингеальной форме (**не рекомендуется** к применению в некоторых странах)	в/м	0,5* / 2 / 7 *детям, а также всем при фарингеальной форме взрослым по 15–20 мг/кг один раз в сутки (в/в, в/м)	0,5* / 3 / 10 *детям по 15–20 мг/кг один раз в сутки (в/в, в/м)

Продолжение Табл. 24.2.

Препарат (поколение)	**Способ применения**	**Схема лечения (Д/К/П)**	
		Бубонная форма	***Лёгочная и септическая формы***
Плазомицин (V)* *возможно применение при фарингеальной форме (**не рекомендуется** к применению в некоторых странах)	в/в	15* / 1 / 7–10 *мг/кг	15* / 1 / 7–10 *мг/кг
Тетрациклины			
Тетрациклин* *возможно применение при фарингеальной форме (детям до 8 лет **только** когда другие варианты исчерпаны)	per os (п)	0,5* / 4 / 10 *<детям по 10 мг/кг (максимум 0,5 г)>	
Доксициклин* *возможно применение при фарингеальной форме; менее эффективен при FI-	per os (п)	0,1* / 2 / 10 *<детям с массой тела до 45 кг по 2,2 мг/кг>	0,1* / 2 / 10–14 *двойная доза на первый приём; <детям с массой тела до 45 кг по 2,2 мг/кг>
Омадациклин* *возможно применение при фарингеальной форме (**не рекомендуется** к применению в некоторых странах)	per os (п)	0,1* / 1 / 10 *двойная доза на первый приём; детям первый раз 4 мг/кг (максимум 0,2 г) и далее по 2 мг/кг (максимум 0,1 г)	
Миноциклин* *возможно применение при фарингеальной форме (**не рекомендуется** к применению в некоторых странах) (детям до 8 лет **только** когда другие варианты исчерпаны)	per os (п)	0,1* / 1 / 10 *двойная доза на первый приём	
Еравациклин (**не рекомендуется** к применению в некоторых странах)	в/в	1* / 2 / 7 *мг/кг	

Продолжение Табл. 24.2.

Препарат (поколение)	**Способ применения**	**Схема лечения (Д/К/П)**	
		Бубонная форма	**Лёгочная и септическая формы**
Цефалоспорины			
Цефотаксим (III)	в/м	2 / 3–4 / 7–10	3 / 3 / 10
	в/в		
Цефтриаксон (III)	в/м	2 / 1 / 7	2 / 2 / 7–10
	в/в		
Цефтазидим (III)	в/м	2 / 2 / 7–10	2 / 3 / 10
	в/в		
Фторхинолоны			
Ципрофлоксацин (II)* *возможно применение при фарингеальной форме	в/в	0,4* / 2 / 7–10 *<детям старше 15 лет по 10 мг/кг (в/в) или по 15 мг/кг (per os)>	0,75 / 2 / 10–14
Ципрофлоксацин (II)* *возможно применение при фарингеальной форме	per os	0,75* / 1 / 7–10 *<детям старше 15 лет по 10 мг/кг (в/в) или по 15 мг/кг (per os)>	
Гемифлоксацин (II) (**не рекомендуется** к применению в некоторых странах)	per os	0,32 / 1 / 7–10	0,32 / 1 / 10–14
Офлоксацин (II)* *возможно применение при фарингеальной форме (**не рекомендуется** к применению в некоторых странах)	per os (п)	0,4* / 2 / 7–10 *<детям по 7,5 мг/кг (максимум 0,4 г)>	0,4* / 2 / 10–14 *<детям с массой до 45 кг по 0,2 г (в возрасте от 12 лет можно по 4 мг/кг)>
Пефлоксацин (II)	per os (п)	0,4 / 2 / 7–10	0,8 / 2 / 10–14

Продолжение Табл. 24.2.

Препарат (поколение)	**Способ применения**	**Схема лечения (Д/К/П)**	
		Бубонная форма	***Лёгочная и септическая формы***
Левофлоксацин (III)* *возможно применение при фарингеальной и менингеальной формах (*препарат выбора пока диагноз неясен*)	в/в per os	0,75* / 1 / 7–10 *<детям с массой до 50 кг по 8 мг/кг; новорожденным при менингеальной форме до 28 дней по 10 мг/кг (в/в)>	0,75* / 1 / 7–10 *<детям с массой до 50 кг по 8 мг/кг; новорожденным до 28 дней по 10 мг/кг (в/в)>
Моксифлоксацин (IV)* *возможно применение при фарингеальнйо и менингеальной формах (*препарат выбора пока диагноз неясен*)	в/в per os	0,4* / 1 / 7–10 *<младенцам от 3 до 23 месяцев по 6 мг/кг; детям от 2 до 5 лет по 5 мг/кг; детям от 6 до 11 лет (или старше с массой до 45 кг) по 4 мг/кг>	0,4* / 1 / 7–10 *<младенцам от 3 до 23 месяцев по 6 мг/кг; детям от 2 до 5 лет по 5 мг/кг; детям от 6 до 11 лет (или старше с массой до 45 кг) по 4 мг/кг>
Монобактамы			
Азтреонам	в/м	2 / 3 / 7–10	
Амфениколы			
Хлорамфеникол* *возможно применение при фарингеальной и менингеальной формах (**не рекомендуется** ВОЗ при бубонной форме) (**не рекомендуется** к применению в некоторых странах)	в/в	25* / 4 / 7 *мг/кг; возможно применение у детей	25-35* / 3 / 7 *мг/кг; детям по 12,5–25 мг/кг два раза в сутки (максимум 1 г)

Примечание:
Все препараты, кроме отдельно указанных случаев, предназначены для лечения **взрослых** (в том числе с ослабленным иммунитетом).
Жирным обозначены препараты первой линии.
Данные, основанные на единичных сообщениях, обозначены знаком < >.

Продолжение Табл. 24.2.

В случае указания на возможность применения препарата для лечения фарингеальной и менингеальной форм используются схемы лечения как при бубонной форме (кроме отдельно укаказанных дозировок). Д – разовая доза, г; К – кратность применения, сутки; П – продолжительность курса. В/м – внутримышечно; в/в – внутривенно; per os – перорально; (п) – парентеральное (т. е. минуя желудочно-кишечный тракт) введение первые 2–3 дня

Из Табл. 24.2 можно видеть, что доксициклин менее эффективен при лечении чумы, вызванной FI- (т. е. бескапсульными) штаммами[1], что важно учитывать при выборе антибиотикотерапии, поскольку бескапсульные штаммы обнаруживают такую же чувствительность к доксициклину во время лабораторного определения антибиотикочувствительности (подробнее об этом в Главе 35), что и штаммы, синтезирующие капсульный антиген (капсулу)[2].

В тяжёлых случаях в течение первых четырёх дней следует применять комбинации антибиотиков, а затем продолжать лечение одним препаратом. Суммарное время лечения может быть увеличено до 14 дней и более. При бубонной форме чумы внутримышечно вводят комбинацию ампициллин + сульбактам (схема лечения: 2 + 1 / 3 / 7–10), при фарингеальной – внутривенно или перорально детям в возрасте от 2 месяцев триметоприм + сульфаметоксазол[3] (5 мг/кг каждые 8 часов). Возможные комбинации антибиотиков для лечения тяжёлых случаев лёгочной и септической форм чумы приведены в Табл. 24.3 (схемы лечения расположены в клетках на пересечении препаратов).

---

[1] Аналогичные сведения обнаруживаются также относительно ампициллина и цефоперазона.

[2] Причиной этого явления, по мнению советских и российских врачей Андрея Павловича Анисимова (р. 1958) и Ивана Алексеевича Дятлова (р. 1959), может быть отсутствие пор, обычно формируемых капсульным антигеном в мембране макрофага во время второго этапа инфекционного процесса (см. Главу 13), что является основным путём проникновения антибиотиков внутрь макрофага и объясняет естественную восприимчивость к ним штаммов, синтезирующих капсульный антиген. В этой связи, в случае бескапсульных штаммов, наоборот, антибиотики не имеют доступа к бактериям, что и объясняет меньшую эффективность применения ряда антибиотиков при лечении чумы, вызванной бескапсульными штаммами.

[3] Препарат ко-тримоксазол.

Табл. 24.3. Схема антибиотикотерапии (комбинированная терапия) человека

Препараты	**Схема лечения (способ применения)** приведены разовые дозы (г); кратность применения – 2 суток, продолжительность курса – 10 суток		
II / **I**	**цефтриаксон**	**ципрофлоксацин**	**рифампицин**
Стрептомицин	0,5 + 1 (в/в + в/м)	0,5 + 0,5 (в/в* + per os) *возможно в/м	0,5 + 0,3 (в/в* + per os) *возможно в/м
Амикацин (**не рекомендуется** к применению в некоторых странах)	0,5 + 1 (в/в + в/м)	0,5 + 0,5 (в/в* + per os) *возможно в/м	0,5 + 0,3 (в/в* + per os) *возможно в/м
Гентамицин (**не рекомендуется** к применению в некоторых странах)	0,08 + 1 (в/в + в/м)	0,08 + 0,5 (в/в* + per os) *возможно в/м	0,08 + 0,3 (в/в* + per os) *возможно в/м
Рифампицин	0,3 + 1 (per os + в/в)	0,3 + 0,5 (per os + per os*) *парентеральное введение первые 2–3 дня	
Цефтриаксон		1 + 0,1 (или 0,2) (в/в* + в/в**) *возможно в/м **парентеральное введение первые 2–3 дня	

Примечание:
Все комбинации предназначены для лечения **взрослых**.
в/м – внутримышечно; в/в – внутривенно; per os – перорально

Во время эпидемий применяют перорально доксициклин (схема лечения: 0,1 / 2 / 10) и ципрофлоксацин (схема лечения: 0,5 / 2 / 10). В случае контакта (подозрении на чуму) и в профилактических целях применяют препараты из Табл. 24.4.

Табл. 24.4. Схема профилактической антибиотикотерапии

Препарат (поколение)	**Схема лечения** приведены разовые дозы (для взрослых в г, для детей в мг/кг); способ применения – per os; продолжительность приёма в целях профилактики – через 48 часов после нахождения в зоне возможного заражения; продолжительность приёма в случае контакта (подозрения на чуму) – 7 суток	
	Взрослые (г / сут)	**Дети (мг/кг / сут)**
Тетрациклины		
Доксициклин	0,1 / 2	2,2* / 2 *если масса меньше 45 кг; если масса больше 45 кг, то по 0,1 г
Тетрациклин	0,5 / 4	10* / 4 *максимум 0,5 г
Омадациклин (**не рекомендуется** к применению в некоторых странах)	0,3 / 1	
Миноциклин (**не рекомендуется** к применению в некоторых странах)	0,1 / 2	2* / 2 *максимум 0,4 г
Фторхинолоны		
Ципрофлоксацин (II)	0,5–0,75 / 2	
Пефлоксацин (II)* *5 суток	0,4 / 2	
Офлоксацин (II) (**не рекомендуется** к применению в некоторых странах)	0,4 / 2	7,5* / 2 *максимум 0,4 г
Левофлоксацин (III)	0,5–0,75 / 1	8* / 2 *если масса меньше 50 кг (максимум 0,25 г); если масса больше 50 кг, то взрослая доза
Гемифлоксацин (IV) (**не рекомендуется** к применению в некоторых странах)	0,32 / 1	

Продолжение Табл. 24.4

Препарат (поколение)	**Схема лечения**	
	Взрослые (г / сут)	**Дети (мг/кг / сут)**
Моксифлоксацин (IV)	0,4 / 1	4* / 2 *если масса меньше 45 кг (максимальная доза 0,2 г): – в возрасте от 3 до 23 месяцев по 6 мг/кг; – в возрасте от 2 до 5 лет по 5 мг/кг; – в возрасте от 6 до 11 лет по 4 мг/кг; если в возрасте старше 12 лет, масса тела больше 45 кг, то взрослая доза
Цефалоспорины		
Цефтриаксон (III)* *в/м, 5 суток	1 / 1	
Цефотаксим (III)* *в/м	1 / 2	
Цефтазидим (III)* *в/м	1 / 2	
Ансамицин		
Рифампицин	0,3 / 2	
Аминогликозиды		
Гентамицин (III)* (**не рекомендуется** к применению в некоторых странах) *в/м, 5 суток	0,08 / 3	
Амикацин (III)* (**не рекомендуется** к применению в некоторых странах) *в/м, 5 суток	0,5 / 2	
Комбинации		
Ко-тримоксазол (триметоприм + сульфаметоксазол)	5* / 2 *мг/кг	5* / 2 *в возрасте от 2 месяцев
Рифампицин + ампициллин	0,3 + 1 / 2	
Рифампицин + ципрофлоксацин	0,3 + 0,25 / 1	

Продолжение Табл. 24.4

Препарат (поколение)	**Схема лечения**	
	Взрослые (г / сут)	**Дети (мг/кг / сут)**
Рифампицин + офлоксацин (**не рекомендуется** к применению в некоторых странах)	0,3 + 0,2 / 1	
Рифампицин + пефлоксацин	0,3 + 0,4 / 1	
Примечание: **Жирным** обозначены препараты первой линии; в/м - внутримышечно		

При попадании возбудителя на слизистые оболочки глаз, носа и рта (так называемое *конъюнктивальное заражение*), несколько капель растворов антибиотиков (Табл. 24.4*) закапывают в глаза и нос, а рот и горло ополаскивают 70%-ным этиловым спиртом.

Табл. 24.4. Схема терапии при конъюнктивальном заражении*

Препарат	**Способ приготовления (глазные капли)**	**Концентрация, мг/мл**
Гентамицина сульфат	Содержимое флакона (0,08 г) растворить в 20 мл дистиллированной воды или содержимое ампулы (1 мл = 0,04 г) растворить в 10 мл дистиллированной воды	4 или 0,3%-ный раствор
Амикацина сульфат	Содержимое флакона (2 мл = 0,5 г) растворить в 125 мл дистиллированной воды	4
Ампициллина натриевая соль	Содержимое флакона (500 мг) растворить в 33,2 мл дистиллированной воды	15
Примечание: **Способ применения**: закапать в глаза сразу после предполагаемого заражения, затем 3 раза в день трое суток. **Допустимо** использовать другие активные в отношении чумного микроба антибиотики, растворимые в дистиллированной воде или допустимом (прилагаемом к препарату) растворителе,. **При отсутствии** антибиотиков применяют 2%-ный раствор борной кислоты, 20%-ный раствор сульфацила натрия (альбуцид) или 0,5%-ный раствор левомицетина сукцинат натрия, которые закапывают в глаза.		

Из всех препаратов, приведённых в Табл. 24.2–24.4, только цефалоспорины могут применяться у *беременных*, поскольку считаются относительно безопасными. Вместе с тем имеются сведения[1], что азтреонам или ципрофлоксацин (на I триместре) безопасны, **однако** данные получены на небольшой выборке, поэтому риск их использования нельзя исключать.

В ряде стран рекомендовано проводить антибиотикотерапию беременным женщинам, даже в профилактических целях, несмотря на риск побочных эффектов для плода (Табл. 24.5).

Табл. 24.5. Схемы антибиотикотерапии беременных

Препарат (поколение)	**Способ применения**	**Схема лечения (Д/К)**
Аминогликозиды		
Стрептомицин (I)	в/в в/м	1 / 2
Гентамицин (II) (**не рекомендуется** к применению в некоторых странах)	в/в в/м	5* / 1 *мг/кг
Тобрамицин (II) (**не рекомендуется** к применению в некоторых странах)	в/в в/м	5–7* / 1 *мг/кг
Амикацин (III) (**не рекомендуется** к применению в некоторых странах)	в/в в/м	15–20* / 1 *мг/кг
Плазомицин (V) (**не рекомендуется** к применению в некоторых странах)	в/в	15* / 1 *мг/кг
Фторхинолоны		
Ципрофлоксацин (II)	в/в	0,4 / 3
	per os	0,5 / 3
Офлоксацин (II) (**не рекомендуется** к применению в некоторых странах)	per os	0,4 / 1
Левофлоксацин (III)	в/в per os	0,75 / 1

[1] Шер С. А., Островская А. В. *Выбор антибактериальных препаратов при беременности*. Педиатрическая фармакология. 2011; 8(1):84–89.

Продолжение Табл. 24.5

Препарат (поколение)	**Способ применения**	**Схема лечения (Д/К)**
Моксифлоксацин (IV)	в/в per os	0,4 / 1
Примечание: *Д* – разовая доза, г; К – кратность применения; в/м – внутримышечно; в/в – внутривенно; per os – перорально		

Нельзя обойти стороной и новые препараты. *Ингибиторы LpxC*, ингибирующие фермент, который катализирует первую стадию синтеза липида А[1], показали эффективность в отношении чумного микроба, а препарат LPC-069 даже показал[2] эффективность в лечении бубонной формы чумы у мышей на уровне доксициклина. Схема лечения предполагает внутривенное введение 200 мг/кг препарата каждые 8 часов, что достаточно радикально (напомним: для детей массой менее 45 кг доксициклин вводится перорально по 2,2 мг/кг каждые 12 часов). Возможно молекула, обладающая большей эффективностью, войдёт в клиническую практику. Другой класс препаратов, *катионные антимикробные пептиды* (напомним: они нам уже встречались в Главе 13, являясь первой преградой, которую встречает чумной микроб, попав в организм человека), которые также могут быть активны в отношении *Y. pestis*. По крайней мере, исследования *in vitro* показывают[3] их эффективность в сочетании с такими антибиотиками, как тетрациклин и миноциклин.

Ещё одним перспективным направлением исследований является так называемое «перепрофилирование препаратов». В частно-

[1] То есть уридиндифосфат-3-*О*-(R-3-гидроксимиристоил)-N-ацетил-D-глюкозаминдеацетилаза или LxpC.

[2] Lemaître N., Liang X., et al. *Curative Treatment of Severe Gram-Negative Bacterial Infections by a New Class of Antibiotics Targeting LpxC*. mBio. 2017; 8(4):e00674–17; DOI: 10.1128/mBio.00674-17.

[3] Cote C. K., Blanco I. I., et al. *Combinations of early generation antibiotics and antimicrobial peptides are effective against a broad spectrum of bacterial biothreat agents*. Microb Pathog. 2020; 142:104050; DOI: 10.1016/j.micpath.2020.104050.

сти, исследование[1] способности противораковых препаратов блеомицина сульфата и стрептозоцина ингибировать рост *Y. pestis* показало, что стандартные дозы этих препаратов, обычно применяемые в онкологической практике, в несколько раз выше минимальной подавляющей концентрации, то есть той концентрации, при которой происходит подавление роста возбудителя (подробнее об этом поговорим в Главе 35). Более того, они оказались эффективными и в отношении штаммов, устойчивых к ципрофлоксацину и доксициклину, что делает их дальнейшее исследование весьма перспективным. Однако не стоит забывать о том, что результаты, полученные *in vitro* («на чашках»), не всегда воспроизводятся *in vivo*: вспомните, что некоторые препараты, ингибирующие рост бесфракционных штаммов, оказываются неэффективными при лечении (Табл. 24.2). И в этой связи необходимо отметить важность адекватной (правильной) антибиотикотерапии, что наглядно демонстрирует следующий случай:

В 1987 году[2] 8-летний индейский мальчик попадает в больницу после трёх дней лихорадки. Через день у него развилась выраженная болезненность живота, сопровождающаяся повышением количества лейкоцитов до 29,2 х 10^9/л (норма – 4,4–10 х 10^9/л), с 30% нейтрофилов (норма – 40–60%) и 57% палочкоядерных гранулоцитов (норма – 3–5%). Первоначально было подозрение на аппендицит, но проведённая лапаротомия обнаружила нормальный аппендикс, а также легко вправимый заворот сигмовидной кишки и, выраженную гепатоспленомегалию (т. е. неестественное увеличение и диффузное изменение печени) и многочисленные увеличенные забрюшинные лимфатические узлы, в биоптате которых были обнаружены грамотрицательные бактерии!

Пациент был переведён в профильную клинику в связи с ухудшением состояния: развилась тяжёлая респираторная недостаточность, диссеминированное внутрисосудистое свёртывание крови и острая почечная недостаточность. Антибиотикотера-

[1] Gur D., Chitlaru T., et al. *Screening of an FDA-approved library for novel drugs against Y. pestis*. Antibiotics (Basel). 2021; 10(1):40; DOI: 10.3390/antibiotics10010040.

[2] Moreno A. J., Reeves T. A., et al. *Imaging in plague*. Eur J Nucl Med. 1987; 13: 315–317

пия включала внутривенное введение хлорамфеникола и цефотаксима. В это время культуры из биоптатов были идентифицированы как Y. pestis.

Через две недели состояние пациента улучшилось (дыхание пришло в норму, нормализовались система свёртывания крови и функция почек), лихорадки не было уже около 10 дней, поэтому антибиотикотерапия была прекращена. Однако уже через два дня появилась болезненность в правой половине живота и вернулась лихорадка. Компьютерная томография показала уплотнение мягких тканей сферической формы в брюшной полости (в месте проведения лапаротомии), которое благодаря галлий-сканированию было идентифицировано, как конгломерат некротизированных лимфатических узлов (нагноившихся бубонов). Внутривенная антибиотикотерапия была возобновлена и когда через пять дней спала лихорадка, пациента перевели на пероральный приём тетрациклина, после чего наступило полное выздоровление.

Обычно при адекватной антибиотикотерапии происходит стерилизация нагновшихся бубонов, после чего происходит их рассасывание, однако при неадекватной у пациента может возникнуть рецидив, что и произошло у мальчика, поскольку, как можно видеть из Табл. 24.2, хлорамфеникол не рекомендован для лечения бубонной чумы, а цефотаксим не эффективен в случае детей.

Наряду с этиотропной проводят ***патогенетическую терапию***, которая направлена на детоксикацию, а также коррекцию гемодинамических и метаболических расстройств, которые наблюдаются при развитии инфекционно-токсического шока. Проводят интенсивную терапию, в основе которой лежат нейтрализация и выведение токсинов, купирование гипоксемии (т. е. пониженнго содержания кислорода в крови), восполнение электролитных нарушений, коррекция показателей гемостаза и поддержание нормального функционирования жизненно важных органов. Целью является поддержание основных показателей на следующем уровне:

Центральное венозное давление	8–12 mmHg
Среднее артериальное давление[1]	≥ 65 mmHg
Диурез	≥ 0,5 мл кг/ч
Сатурация (в т. ч. в случае гемотрансфузии)	≥ 70%

Следует помнить, что падение артериального давления свидетельствует о генерализации процесса, то есть о начале вторичной септической формы заболевания. Патогенетическая терапия включает нормализацию водно-электролитного баланса (инфузионная поддержка), введение кортикостероидов, поддержку работы сердца и органов дыхания (при необходимости). Инфузионную терапию проводят с помощью коллоидов (поддерживают объём циркулирующей крови) и кристаллоидов (солевых растворов) в соотношении 1:1. В качестве первых используют альбумин, гидроксиэтилкрахмал, 4%-ный гелофузин, а в качестве вторых – физиологический раствор (т. е. 0,9%-ный раствор хлорида натрия), 5–10%-ный раствор глюкозы, раствор Рингера.

Кортикостероиды (в частности, гидрокортизон в дозировке 240–300 мг/сут в течение 5–7 суток) могут улучшить гемодинамику. Возможно применение плазмофереза, гемоплазмафильтрации, а также трансфузия эритроцитарной массы.

Для поддержания работы сердечно-сосудистой системы применяют вазопрессоры. Норадреналин вводят по 2–5 мкг/мин, доводя значение среднего артериального давления до целевых значений. Допамин вводят по 5 мл (4%-ный раствор), добавляя его в 200 мл физиологического раствора (возможно совместное введение норадреналина и допамина).

При развитии синдрома малого сердечного выброса, который характеризуется снижением сердечного индекса[2] до 2 л/мин/м^3 и

---

[1] Среднее артериальное давление ($АД_{ср}$) вычисляется **по формуле**:

$АД_{ср}$ = (1/3 х САД) + (2/3 х ДАД), где САД – систолическое артериальное давление, mmHg; ДАД – диастолическое артериальное давление, mmHg.

[2] Показатель насосной функции сердца, выраженный как отношение минутного объёма сердца (л/мин) к площади поверхности тела (м^2), где минутный объём серд-

менее, а также систолическим артериальным давлением ниже 90 mmHg, следует применять инотроп добутамин в дозе 250 мг на 500 мл физиологического раствора. Возможна комбинация с вазопрессорами в расчётной дозировке 2,5–40 мг/кг/мин.

Необходимо проводить постоянный контроль диуреза, и в случае его нарушения (снижения объёма выделяемой мочи) применяют петлевые диуретики (фуросемид, этакриновая кислота). Применение осмотрических диуретиков (маннитол) может усугубить сердечно-сосудистую недостаточность.

Во время интенсивной терапии пациенту обеспечивают суточное получение калорий в 25–30 ккал/кг массы тела, а также поддерживают нормальный уровень глюкозы в крови.

Выписывают пациентов после полного выздоровления, но не ранее 4 недель в случае бубонной формы и не ранее 6 недель в случае лёгочной формы, а также трёхкратного отрицательного результата бактериологического исследования образцов мокроты или крови (каждый день после отмены антибиотиков) или двукратного исследования пунктата бубона. Медицинское наблюдение после выписки осуществляют в течение трёх месяцев.

25 РЕЗИСТЕНТНОСТЬ

2 августа 1996 года[1] в деревне Кайю (подконтрольная Китаю префектура Шаннань в Тибете)[2] 21-летний пастух поймал, освежевал и съел больного зайца. Через два дня у него поднялась температура и появилась подмышечная лимфаденопатия (бубонная

ца вычисляется **по формуле**: УО х ЧСС (УО – ударный объём, мл; ЧСС – частота сердечных сокращений, мин).

[1] Dai R., He J., et al. *A novel mechanism of streptomycin resistance in Yersinia pestis: Mutation in the rpsL gene*. PLoS Negl Trop Dis. 2021; 15(4):e0009324; DOI: 10.1371/journal.pntd.0009324.

[2] Располагается на территории Цинхай-Тибетского природного очага.

форма), к которым на следующий день присоединились головная боль, озноб, боль в груди и кашель с кровянистой мокротой. 9 августа он умер без какого-либо лечения. Однако некоторое время за ним ухаживал друг-ветеринар (без средств защиты), у которого к 11 августа появились симптомы первичной лёгочной чумы. Он получал комбинированное лечение, включающее внутримышечное введение 1 г стрептомицина (2 раза в сутки), пероральное введение 1 г ко-тримоксазола (2 раза в сутки) и 0,5 г тетрациклина (3 раза в сутки). Лечение продолжалось до 19 августа, когда пациент умер. Его жена, имевшая симптомы первичной лёгочной чумы с 16 августа, несмотря на аналогичное лечение, умерла в тот же день. Сельский врач, которая находилась с ней в тесном контакте, также заразилась – симптомы начались 17 августа, а 22 августа она скончалась.

Выделенный от жены ветеринара штамм *Y. pestis* S19960127 имел мутацию в хромосомном гене рибосомального белка S12 (*rpsL*), которая приводила к аминокислотной замене лизина (Lys) на аргинин (Arg) в белке RpsL и делала штамм устойчивым к стрептомицину. Конечно, все пациенты получали не только стрептомицин, поэтому нет уверенности, что смерть наступила именно из-за резистентности к нему, а не из-за тяжести течения или упущенного времени (при лёгочной форме лечение следует начинать как можно раньше, поскольку спустя 15–20 часов оно может оказаться уже не эффективным).

В Главе 7 мы говорили, что *Y. pestis* может содержать конъюгативные плазмиды, позволяющие ей реализовать систему секреции IV типа, то есть приобретать гены, среди которых могут быть и гены антибиотикорезистентности. Так, например, плазмида IP1203 (150 Кб) несёт гены устойчивости к стрептомицину. С другой стороны, устойчивость к антибиотикам, как мы видели в приведённом случае, может быть следствием мутации генов. Причина появления этой мутации на сегодняшний день неизвестна, но она точно не вызвана применением стрептомицина, поскольку, например, на Мадагаскаре (Табл. 25.1; 2013 год) устойчивые к стрептомицину штаммы были изолированы из мокроты пациентов до введения стрептомицина. Также представляет интерес тот факт, что все пациенты на Мадагаскаре, получавшие аналогичное с пациентами из

Тибета лечение, выжили, тогда как на Тибете летальность оказалась абсолютной (штаммы имели различные мутации в гене *rpsL*)[1].

Конечно, проблема антибиотикорезистентности у чумного микроба не стоит так остро, как у других бактерий, однако существование штаммов с резистентностью к антибиотикам (Табл. 25.1) является тревожным «звонком», грозящим сильно затруднить как борьбу с инфекцией, так и её лечение. Не следует забывать и об искусственно созданных штаммах (например, *Y. pestis* KM219, KM244, KM245 и KM258), имеющих устойчивость к канамицину, которые представляют угрозу как возможный объект биотерроризма. С другой стороны, по сведениям Игоря Валериановича Домарадского, им (с коллегами) был получен антибиотикорезистентный штамм *Y. pestis* EV, на основе которого была создана вакцина, преимуществом которой стала возможность применения «одновременно с экстренной профилактикой с помощью антибиотиков (обычная же вакцина при этом погибает)»[2].

Для решения проблемы антибитикорезистентности, уже ставшей актуальной и для чумы, разрабатываются альтернативные методы лечения, среди которых важную роль играет применение бактериофагов или *фаготерапия*. Ранее мы уже говорили о литических фагах – бактериальных вирусах с высокой специфичностью, чей жизненный цикл заканчивается лизисом клеточной стенки бактерии (соответственно, с её гибелью) и «выходом» новых бактериофагов.

История бактериофагов началась в 1895 году, когда Пе́рси Фараде́й Фра́нкленд[3] проводил опыты[4] по сокультивированию брюшнотифозной (*Salmonella typhi*) и кишечной (*Escherichia coli*) палочек

---

[1] Это свидетельствует в пользу того, что резистентность к стрептомицину не явилась причиной смерти паицентов из Тибета.

[2] Создан в рамках «пятой» проблемы (бактериологической защиты) примерно 1970–1973 года, данные не публиковались; цит. по: Домарадский И.В. *Перевёртыш (рассказ «неудобного человека»)*. М.: [б. и.], 1995. 176 с.

[3] Percy Faraday Frankland, 1858–1946; британский химик. Член Королевского общетсва Лондона (1891). Вместе со своей женой Грейс Франкленд выделил первую чистую культуру нитрифицирующих (т. е. окисляющих аммиак) бактерий.

[4] Frankland P. *Ueber das Verhalten des Typhusbacillus und des Bacillus coli communis im Trinkwasser*. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten 1895; 19(1):393–407; DOI: 10.1007/bf02216789.

Табл. 25.1. Штаммы чумного микроба с резистентностью к антибиотикам

Год	Место	Хозяин	Механизм	Резистентность	Штамм *Y. pestis*
1987	Андапа (Мадагаскар)	человек	мутация гена *rpsL*	стрептомицин	12/87
1995	Амбалавао (Мадагаскар)	человек	плазмида IP1202	множественная[1]	17/95 (IP275)
1995	Ампитана (Мадагаскар)	человек	плазмида IP1203	стрептомицин	16/95
1996	Кайю (Тибет)	человек	мутация гена *rpsL*	стрептомицин	S19960127
1998	Антананариву (Мадагаскар)	крыса	плазмида pIP2180H	доксициклин	IP2180H
1999	Казахстан	человек	?	левомицетин	?
2013	Фарацихо (Мадагаскар)	человек	мутация гена *rpsL*	стрептомицин	56/13
2013	Фарацихо (Мадагаскар)	человек	мутация гена *rpsL*	стрептомицин	59/13
1960-2007	Монголия	сурок	?	множественная[2]	MNG3122

Примечание:
[1] стрептомицин, ампициллин, канамицин, спектиномицин, сульфаниламид, тетрациклин, миноциклин и хлорамфеникол (чувствителен к котримоксазолу).
[2] гентамицин, тетрациклин, доксициклин, хлорамфеникол

в воде, обнаружив, что в случае культивирования в воде из английской реки Темзы первые стремительно погибают, чему он не смог найти объяснение. В 1896 году Эрнéст Хэ́нбери Хэ́нкин[1], желая изучить количество содержащихся в индийской реке Ганг холерных вибрионов (*Vibrio cholerae*), обнаружил[2], что в 1 *мл* воды на месте

[1] Ernest Hanbury Hankin, 1865–1939; британский врач, бактериолог. Автор работ по холере и малярии, а также свойствам опиума и яда кобры. Изучал фауну Индии (в основном птиц) и архитектуру Великих Моголов.

[2] Hankin E. H. *L'action bactericide des eaux de la Jumna et du Gange sur le vibrion du cholera*. Annales de l'Institut Pasteur. 1896; 10:511–523.

входа в город Агру содержится 100 000 бактериальных клеток, тогда как на выходе – только 90 клеток. Это явление также тогда не нашло объяснения и было названо «феноменом Хэнкина». Похожее явление через два года наблюдал Николай Фёдорович Гамале́я[1], когда культивируемый в дистиллированной воде сибиреязвенный микроб (*Bacillus anthracis*) стремительно погибал, а жидкость приобретала способность лизировать другие культуры сибиреязвенного микроба. Увиденное он объяснил[2] действием бактериолизина, образующегося при распаде бактерий. Многие учёные опишут схожие явления, и только в 1915 году Фредери́к Туо́рт[3] сообщит[4] о неком агенте, способном заражать стафилококки, уже определив его как вирус, а два года спустя Фе́ликс д'Эре́лль[5], обнаружив вирус возбудителя дизентерии (*Shigella spp.*)[6], назвёт его «бактериофагом» (греч. φᾰ́γω – «пожираю»; Рис. 25.1). Он же успешно применит бактериофаги во время эпидемий чумы и холеры в Египте (1921) и предложит их использовать для лечения инфекционных болезней.

Примерно в это же время Феликс д'Эрелль знакомится с Георгием Григорьевичем Элиа́вой[7], найдя в его лице соратника, благодаря

---

[1] 1859–1949; украинский и советский врач, бактериолог, эпидемиолог. Член-корреспондент (1939) и почётный член (1940) Академии наук СССР, академик Академии медицинских наук СССР (1945). Лауреат Сталинской премии (1943). Автор работ по инфекционным болезням, внёс значительный вклад в иммунологию и разработал учение об иммунитете. Научный руководитель (1930–1938) Центрального института эпидемиологии и микробиологии (ныне – НИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи).

[2] Гамалея Н. Ф. *Бактериолизины – ферменты, разрушающие бактерии*. Русский архив патологии, клинической медицины и бактериологии. 1898; 6:148–161 (цит. по D. Bardell [1982]: «N. F. Gamaleya, 'Bacteriolysins – ferments destroying bacteria', *Russian Archives of Pathology, Clinical Medicine, and Bacteriology, 1898, 6, 607–613 [in Russian]*»).

[3] Frederik Twort; 1877–1950; британский врач, бактериолог, автор работ по инфекционным болезням. Член Королевского общества Лондона (1929)

[4] Twort F. W. *An investigation on the nature of ultra-microscopic viruses*. Lancet. 1915; 186(4814):1241–1243; DOI: 10.1016/S0140-6736(0)20383-3.

[5] Félix d'Hérelle, 1873–1949; французский и канадский энтузиаст, не имевший никакого специального образования, но ставший отцом фагологии.

[6] D'Hérelles F. Sur un microbe invisible antagoniste des bacilles dysentériques. Comptes Rendus Academie des Sciences Paris. 1917; 165:373–375.

[7] გიორგი ელიავა, 1892–1937; советский (грузинский) врач, бактериолог, основоположник фаготерапии в СССР и основатель Института бактериофага (ныне – Институт бактериофага, микробиологии и вирусологии им. Г. Элиавы). Как враг народа расстрелян 09.07.1937; реабилитирован Военной коллегией Верховного суда СССР 22.08.1957 «за отсутствием состава преступления».

чему в 1923 году в городе Тбилиси (Грузия, СССР) появляется Институт бактериофага (сам Феликс д'Эрелль несколько лет жил в городе Тбилиси, но на фоне репрессий 1930-х годов спешно покинул СССР).

Появление антибиотиков, однако, предало забвению идею фаготерапии, а её изучением продолжили заниматься только в СССР, что сыграло важную роль во время Второй мировой войны, когда Магдалина Петровна Покро́вская[1] успешно применяла бактериофаги для лечения ран у солдат.

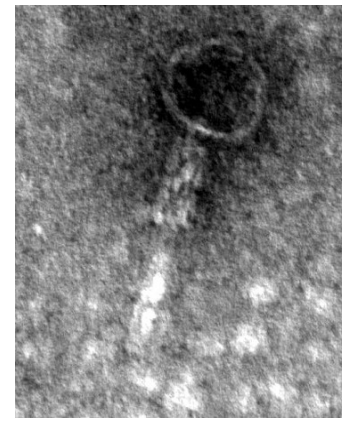


Рис. 25.1. *Литический бактериофаг, активный в отношении Y. pestis*

Вместе с тем для лечения чумы, за исключением опыта Феликса д'Эрелля, приведшего к выздоровлению четырёх пациентов с бубонной формой[2], бактериофаги не использовались[3]. Опыты[4], проведённые на животных, показали, что независимо от формы чумы и способа введения бактериофага (интраназально, внутрибрюшинно, внутривенно), даже в случае коктейля (т. е. смеси бактериофагов), фаготерапия не предотвращает бактериемию, а только отсрочивает гибель животных, при том, что бактериофаг аккумулируется в ор-

[1] 1901–1980; советский (российский) врач, бактериолог, эпидемиолог. Заслуженный деятель науки РСФСР. Заместитель директора по научной работе Научно-исследовательского противочумного института Кавказа и Закавказья (ныне – Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт). Автор знаменитой книги «Лечение ран бактериофагом» (1941), в которой изложен опыт применения бактериофагов при лечении ран (в том числе гнойных) во время войны. Выделила противочумный бактериофаг, названный в её честь.

[2] D'Herelle F. *Essai de traitement de la peste bubonique par le bacteriophage*. Press. Med. 1925; 33:1393–1394.

[3] Противочумный бактериофаг Покровской примеянется только для диагностических целей.

[4] Filippov A. A., Sergueev K. V., et al. *Bacteriophage therapy of experimental bubonic plague in mice*. Adv Exp Med Biol. 2012; 954:337–348; DOI: 10.1007/978-1-4614-3561-7_41; Vagima Y., Gur D., et al. Phage Therapy Potentiates Second-Line Antibiotic Treatment against Pneumonic Plague. Viruses. 2022; 14(4):688; DOI: 10.3390/v14040688.

ганах и крови животного уже через 30 минут. Вероятно, кровь ингибирует его литические свойства.

С другой стороны, сочетание фаговой терапии и антибиотиков (в дозировке, недостаточной для лечения) обеспечивает выживание при лёгочной форме чумы (Рис. 25.2), что особенно показательно ввиду сложности лечения данной формы заболевания. Кроме того, такая комбинированная терапия возможна с препаратами второй линии (в частности, цефтриаксоном).

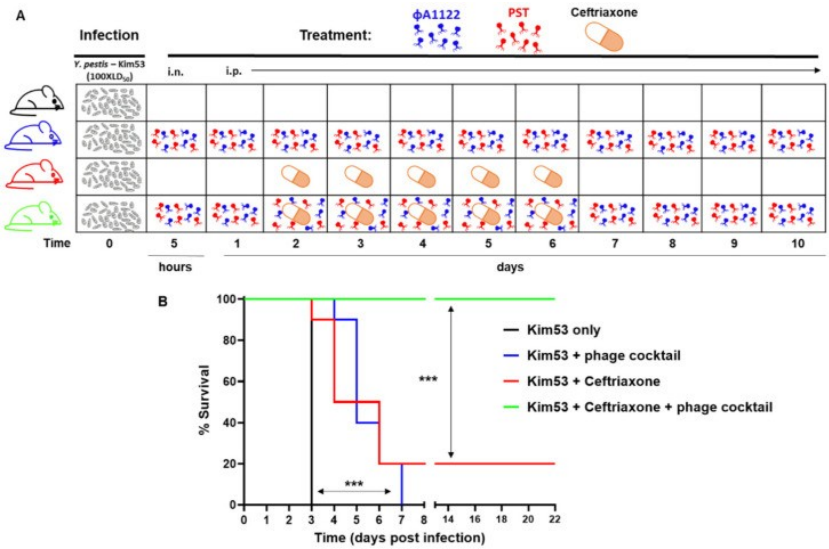


Рис. 25.2. *Схема лечения (A) и кривые выживаемости (B) мышей при аэрогенном инфицировании штаммом Y. pestis KIM53. Контрольные мыши (чёрный цвет), не получавшие лечения, умерли на 3 день. Мыши, получавшие лечение, к пятому дню обнаруживали лучшую выживаемость при фаготерапии (синий цвет), однако, к 7 дню все погибали, тогда как 20 % мышей при антибиотикотерапии (красный цвет) выживали. Мыши, получавшие комбинированное лечение, выживали в 100% случаев. В качестве антибиотикотерапии применялось подкожное введение цефтриаксона, в качестве фаготерапии – интраназальное или внутрибрюшинное введение коктейля фагов ϕA1122 и PST (по Vagima Y., 2022)*

26 ПРОФИЛАКТИКА

Не бывает пророк без чести, разве только в отечестве своём и у родственников, и в доме своём…

Мк. 6:4

Эффективным способом борьбы с инфекционными заболеваниями является профилактика (специфическая и неспецифическая). Как мудро отмечал Китасато Сибасабуро: «В борьбе с чумой нельзя полагаться только на карантин».

К ***неспецифической*** профилактике относят комплекс мер, направленных на ограничение контакта человека с чумным микробом (Рис. 26.1). К ним, с одной стороны, относят просветительскую работу с населением, ограничительные мероприятия, специальную подготовку ветеринарных и медицинских работников. На приведённых примерах мы видели, что люди, живущие на территории природных очагов, могут употреблять в пищу сырые органы сурков, а врачи далеко не всегда способны распознать чуму, причём как у человека, так и животного (особенно когда речь идёт о таком редком явлении, как первичная лёгочная чума у собак). С другой стороны, важным компонентом неспецифической профилактики является эпидемиологический надзор за очагом (Рис. 26.2 и Рис. 26.3), который включает в себя наблюдение за течением эпизоотий – идентификация возбудителя, а также учёт и своевременная регуляция численности носителей и переносчиков[1]. Наблюдение осуществляется специальными бригадами, которые производят забор проб окружающей среды и отлов животных (носителей и переносчиков). В экстренных случаях проводят дезинфекцию (т. е. уничтожение возбудителя), дезинсекцию (т. е. уничтожение пере-

[1] В случае возникновения антропургических очагов проводят экстренные дезинфекционные мероприятия, включающие умерщвление носителей и их исследование (Рис. 26.4).



Рис. 26.1. *Плакат в деревне Еа-Ви (провинция Даклак), призывающий к уничтожению крыс для борьбы с чумой (слева) и плакат на дороге Хошимин – Далат, предупреждающий об очаге чумы (справа), Вьетнам, 2004 год (любезно предоставлено Виктором Васильевичем Сунцовым)*

носчиков[1]) и дератизацию (т. е. уничтожение носителей[2]). Для дезинфекции применяют физические и химические методы. К первым относятся сжигание, кипячение, паровая и ультрафиолетовая обработки (и др.), ко вторым – применение хлорсодержащих (хлорная известь) и кислородсодержащих (перекись водорода) препаратов, альдегидов (глутаровый альдегид) и спиртов (этиловый спирт), а также любых веществ, активных в отношении возбудителя[3]. При осуществлении дезинсекционных и дератизационных мероприятий первостепенное значение имеют предотвращение загрязнения природы и сохранение биологического разнообразия.

[1] Интересно, что ещё в Древнем Египте населению рекомендовалось покрывать тело маслом моринги масличной (*Moringa oleifera*) для защиты от укусов клещей, блох и комаров (Папирус Эберса, ок. 1550 года до н. э.).

[2] В данном случае грызунов.

[3] Следует помнить, что даже истребление основного носителя не может привести к ликвидации очага, примером чего является истребление малого суслика на территории Прикаспийского Северо-Западного степного очага к 1960 году. Уже в 1972 году эпизоотическая активность очага возобновилась.

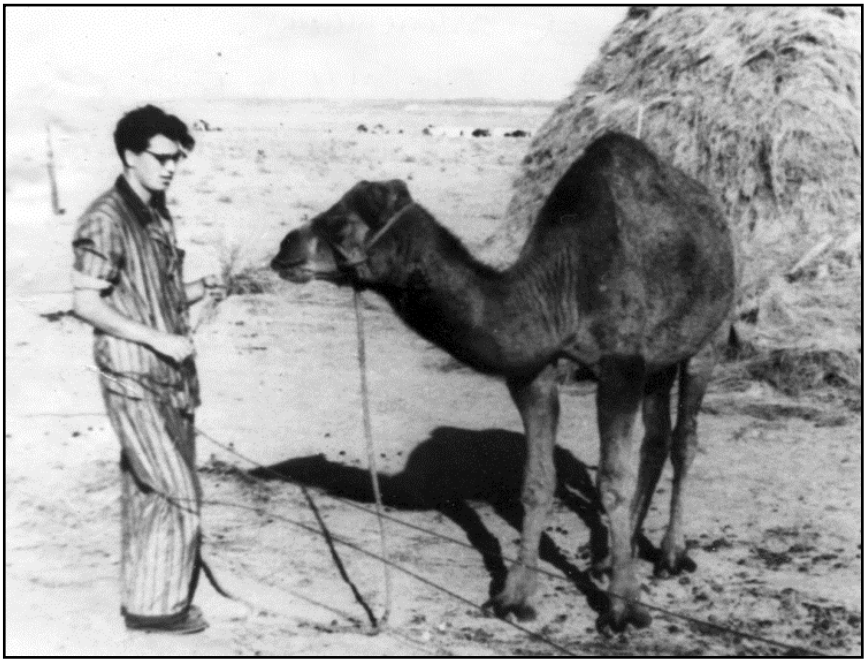


Рис. 26.2. *Полевая работа в очаге чумы (1954). На фотографии, любезно предоставленной Андреем Павловичем Анисимовым, запечатлён его отец, Павел Иванович Ани́симов[1], подкармливающий местного верблюда во время одной из «верблюжьих экспедиций»[2]. Как мы помним, верблюды являются носителями чумы, но заразиться можно только от их мяса и молока, не прошедших термической обработки. Обратите внимание на одежду специалиста (так называемую пижаму), о ней подробнее поговорим в Главе 28.*

[1] 1929–2019; советский (российский) врач, бактериолог. Директор Российского противочумного института «Микроб» (1973–1988). Один из основоположников отечественной генетики особо опасных инфекций, создатель (с колл.) диагностических и профилактических препаратов, в частности, вакцины холерной бивалентной химической таблетированной (патент RU 2080121 C1, 27.05.1997).

[2] целью экспедиций, проводимых силами сотрудников Небит – Дагского отделения Туркменской противочумной станции (ныне – Балканабадское отделение Центра профилактики особо опасных инфекций), было определение роли верблюдов в эпидемиологии чумы, изучение их восприимчивости к чуме, механизма заражения в природных и экспериментальных условиях, уточнение патогенеза и клиники.



Рис. 26.3. *Исследование популяции гималайских сусликов (Marmota himalayana) в природном очаге чумы провинции Сычуань (Китай)*



Рис. 26.4. *Массовое исследование умерщвлённых портовых крыс в Японии во время третьей пандемии чумы. Подобные меры позволили выявить чумной микроб до заболевания первого человека во время завоза в город Йокогама в 1902 году (по Shibasaburo K., 1906; публикуется с разрешения Мемориального музея Образовательной корпорации Института Китасато)*

Оценку эпидемиологического потенциала природного очага (т. е. показателя опасности заражения людей) осуществляют по формуле:

$$ЭП = (S \cdot Y + K(P + M) \cdot V \cdot \sum B_i \ , \% \ ,$$

где S – площадь эпизоотии, Y – интенсивность эпизоотии, K – доля участка очага, занятая поселениями основного носителя, P – плотность грызунов или их поселений на 1 км², M – запас блох на 1 км², V – вирулентность штаммов возбудителя, B_1 – контакт человека с блохами носителей, B_2 – наличие блох и грызунов в жилье, B_3 – наличие верблюдов и их численость, B_4 – охота на основных и случайных носителей, B_5 – близость людских поселений к местам обитания носителей и контакт детей с ними, B_6 – наличие в жилье человека кошек и собак.

На современном этапе данная формула лежит в основе компьютерных программ для оценки эпидемиологического потенциала природного очага, а критерии B_i включают в себя множество уточнений, например, контакт с большой песчанкой (B_{11}) или браконьерство (B_{42}).

Следует понимать, что случай заражения даже одного человека является чрезвычайной ситуацией в области общественного здравоохранения, однако в зависимости от развития инфраструктуры территории и напряжённости эпидемиологической обстановки, сложившейся в природных очагах, чрезвычайная ситуация может иметь различное значение (Табл. 26.1).

Конечную оценку проводят по величине итогового показателя, равного сумме всех критериев (в долях от единицы), делённой на их количество (т. е. 5). Таким образом получают, что величина итогового показателя для локального уровня ≤1, для регионального – от 1,1 до 3, для национального – от 3,1 до 4, а для международного – от 4,1 до 5.

Табл. 26.1. Критерии уровней чрезвычайной ситуации

Критерии	Уровень чрезвычайной ситуации			
	Локальный	**Региональный**	**Национальный**	**Международный**
Площадь эпизоотий (% от общей площади энзоотий[1])	<0,01	0,01–0,1	1–5	>5
Количество населения с высоким риском заражения (% от общей численности контингентов риска инфицирования)	<1	1–10	11–40	>40
Величина эпидемиологи-ческого потенциала (ЭП,%)	<10	10–30	30–50	>50
Готовность медицинских учреждений	неудовлетворительная (<4)			
Риск выноса (завоза)	<10	10–25	25–40	>40

Специфическая профилактика или *иммунопрофилактика* является наиболее эффективным способом борьбы с инфекционными заболеваниями. История первой противочумной вакцины начинается с Владимира Ааронович Ха́вкина[2], который, отличаясь от других выпускников Императорского Новороссийского университета блестящими способностями и трудолюбием, однако не мог найти себе достойную работу в Российской Империи, поскольку не

[1] То есть там, где может быть вспышка заболевания, например, в природном очаге или на сопредельной с ним территории.

[2] Waldemar Haffkine, 1860–1930, при рождении назван Мордхе-Вольф, в последние годы называл себя Мордехай-Вольф; украинский и британский врач, иммунолог, бактериолог, видный деятель сионистского движения. Открытая им в 1899 году в городе Бомбей (Индия) лаборатория (Plague Research Laboratory) с 1925 года носит его имя (Haffkine Institute for training, research and testing).



«Фейерверк в Рёгоку»
гравюра 98 из собрания «Сто знаменитых видов Эдо» Утáгава Хирóсигэ
Хранится в Бруклинском музее
На гравюре запечатлён мост Рёгоку во время наслаждения вечерней прохладой на реке Сумида – обычая, сопровождаемого фейерверками и установленного в 1733 году сёгуном Токýгава Ёсúмунэ в качестве обряда очищения, чтобы рассеять злых духов чумы и голода, охвативших тогда Японию. Интересно, что фейерверки действиетльно могут быть эффективным средством борьбы с чумой. Так, У Ляньдэ применил этот метод во время Маньчжурской эпидемии чумы

желал переходить из иудаизма в православие. Благодаря своему учителю, Илье Ильичу Ме́чникову[1], в 1889 году он попадает на работу в Институт Пастера во Франции, где работает над созданием вакцин на основе убитых нагреванием штаммов бактерий. Первая разработка, вакцина против холеры, была в 1892 году испытана на себе путём введения четырёхкратной дозы. Хотя вначале медицинское сообщество относилось к вакцине весьма скептично, уже на следующий год вакцина спасла Индию от эпидемии холеры. В 1896 году вспыхнула эпидемия чумы и Владимира Аароновича срочно вызвали в город Бомбей (Индия). 10 января 1897 года разработанная противочумная вакцина была снова испытана на себе, также оказавшись эффективной. Затем её испытали на местных заключённых и допустили к использованию. Первая противочумная вакцина[2], получившая название «лимфа Хавкина», победила эпидемию[3].

Готовилась она следующим образом: шестидневные бульонные культуры чумного микроба, выращенные при 28°С при частом взбалтывании, убивались нагреванием до 65°С в течение часа. Следует, однако, отметить, что убитые (инактивированные) вакцины, хотя и стабильны при хранении, вызывают очень короткий поствакцинальный иммунитет, не защищают от лёгочной формы чумы и достаточно реактогенны (т. е. вызывают побочные эффекты). Поэтому уже в 30-х годах прошлого века Львом Александровичем Зильбером[4] была предпринята попытка повысить эффективность вакцины. Для этого он нагревал микробную взвесь в присут-

[1] 1845–1916; украинский и французский врач, бактериолог, физиолог, патолог, отец теории врождённого иммунитета. Почётный член Петербургской Академии наук (1902). Лауреат Нобелевской премии по физиологии или медицине (1908).

[2] Справедливости ради укажем, что ещё Данила Самойлович Самойлович-Сущинский привил себе гной бубона, что по сути является первой задокументированной вакцинацией от чумы.

[3] Тут нужно оговориться, что в то время прививали даже уже заболевших, что в настоящее время считается неэффективным.

[4] 1894–1966; советский (российский) врач, бактериолог, вирусолог, иммунолог. Академик Академии медицинских наук СССР (1945), лауреат Сталинской премии и Государственной премии СССР в области науки и техники (1967, посмертно). Открыватель вируса клещевого энцефалита, один из создателей теории вирусной природы рака. Соавтор первого советского учебника по вирусологии. Участник ликвидации эпидемии чумы в Нагорном Карабахе (1930). За отказы участвовать в создании бактериологического оружия трижды находился в заключении.

ствии концентрированных растворов сахарозы, чтобы белки бактериальной клетки не подвергались значительным изменениям из-за резкой денатурации. Так была получена АД-вакцина, но и она не давала абсолютной защиты.

Примерно в это же время стали разрабатываться *живые вакцины* на основе аттенуированных (т. е. искусственно ослабленных) штаммов[1]. Первые вакцины были получены на основе штамма Tjiwidej[2], лишённого плазмиды pCad, и штамма EV76, лишённого *pgm*-области. Первый штамм, выделенный Л. Оттеном[3] на острове Ява (Индонезия), потерял вирулентность в результате хранения на скошенном агаре с сывороткой в течение четырёх месяцев. Второй штамм, выделенный Жоржем Жира́ром [4] и Жаном Ро́биком [5] на острове Мадагаскар и названный в честь погибшей от чумы девочки, потерял вирулентность в результате ежемесячного пассирования (т. е. пересевания) в течение трёх лет (EV – инициалы девочки, а 76 – количество пассажей (т.е. пересевов) на плотных питательных средах, необходимых для аттенуации) (вакцины, созданные на основе этих штаммов, были испытаны там же). Следует отметить, что пересев на питательных средах значительно ослабляет штамм, тогда как пересев через животное может позволить ему «восстановиться». Именно этот эффект мы видели в случае с солдатом (Глава 20), когда диагноз «менингеальная чума» смогли подтвердить только с помощью биопробного животного.

В СССР штамм EV76 попал в 1936 году, когда Жорж Жирар передал его в противочумный институт «Микроб». В 1941 году Михаилом Михайловичем Фа́йбичем[6] (с коллегами) в стенах Киров-

[1] Справедливости ради отметим, что жидкая инактивированная вакцина I.P. до настоящего времени применяется в Индии.

[2] Также встречается наименование Tjividej; именно с помощью этого штамма был обнаружен мышиный токсин (подробнее о нём было в Главе 3).

[3] L. Otten; французский врач, бактериолог.

[4] Georges Girard, 1888–1985; французский врач, бактериолог. С 1922 по 1940 годы директор Института бактериологии Мадагаскара (ныне – Institut Pasteur de Madagascar). С 1941 года – начальник противочумной службы в Институте Пастера.

[5] Jean Robic, 1893–1968; французский военный врач.

[6] 1898–1986; советский (белорусский) военный врач, лауреат Сталинской премии 3 степени (1943, 1948).

ского НИИ эпидемиологии и гигиены[1] на его основе была получена наиболее иммуногенная линия EV НИИЭГ, которая до сих пор используется для создания вакцин. Несомненным достоинством вакцин на основе штаммов EV76 и EV НИИЭГ является возможность формирования иммунитета уже на седьмой день после вакцинации, который сохраняется до года. Однако, как мы помним, при некоторых заболеваниях, в частности гемохроматозе, применение такой вакцины может привести к смертельному исходу.

Незадолго до этого, в 1934 году, в стенах Ставропольского противочумного института Магдалина Петровна Покровская разработала вакцину на основе собственного аттенуированного штамма АМП (от «авирулентный мутант пестис»), полученного ещё в 1929 году путём воздействия бактериофагом на культуру чумного микроба. В отличие от штаммов Tjiwidej и EV76 она получила свой штамм целенаправленно. Дело в том, что колонии чумного микроба на чашках Петри (чаще говорят просто: чашках) могут быть в двух формах: S-форме (т. е. гладкие, от анг. smooth – «гладкий») и R-форме (т. е. шероховатые, от англ. rough – «шероховатый»), где первая авирулентная, а вторая вирулентная (причины этого явления неизвестны). И поскольку авирулентные S-формы чумного микроба, как правило, нестойкие, Магдалина Петровна поставила своей задачей получить именно эту форму[2]. Многократно воздействуя бактериофагом на агаровую культуру (т. е. растущую на агаре – плотной питательной среде), она обнаружила появление на культуре кожистых плотных колоний, пропитанных вязким веществом. При пересеве эти колонии росли гладкими и прозрачными, как «капли росы». Это была первая стойкая S-форма чумного микроба[3]. Будучи уверенной в успехе, не дожидаясь проверки вакцины на приматах, Магдалина Петровна (с коллегами) ввела себе внутривенно по 500 млн микробных клеток (имеются сведения, что во время эксперимента она болела гриппом). Эксперимент прошёл

[1] В настоящее время 48 Центральный НИИ Министерства обороны Российской Федерации.

[2] Штаммы Tjiwidej и EV76 относятся к R-форме, а их авирулентность обусловлена потерей части генов.

[3] Покровская М. П. *Авирулентный мутант B. pestis (культура АМП).* Вестник микробиологии, эпидемиологии и паразитологии. 1934; 13(1):3–17.

успешно, а её вакцина спасла много жизней во время ликвидации эпидемии чумы в Монголии (1936–1938).

В 1937 году, изучая влияние бактериофагов на R- и S-формы чумного микроба, Евгения Ильинична Коробко́ва [1] получила [2] штамм 46-S и вакцину на его основе (буква S в названии указывает на то, что штамм относится к S-форме)[3]. Полученный через два года Николаем Николаевичем Жу́ковым-Вере́жниковым[4] (с коллегами) штамм[5], находился в S-форме (ЖВ-S), но был нестабилен и часто

---

[1] 1893–1970; советский (российский) врач, бактериолог, лауреат государственной премии СССР (1952). Автор работ по чуме, холере и псевдотуберкулёзу. Благодаря ней в медицинскую практику внедрена противотуберкулёзная вакцина БЦЖ (сокр. от бацилла Кальме́та – Гере́на). Разработала и внедрила накожный метод вакцинации против чумы.

[2] Коробкова Е. И. *Действие бактериофага на R- и S-варианты чумы и появление авирулентных мутантов*. Вестник микробиологии, эпидемиологии и паразитологии. 1934; XVI(1–2):3–16.

[3] Вот как она сама описывает его получение: «одна капля суточной бульонной культуры штамма № 117 была растёрта шпателем по поверхности агара; после этого была внесена одна капля слабого фага [то есть разведённого фага, для получения которого необходимо «петлёй коснуться перламутрового налёта лизированных [фагом] колоний и перенести его в 10–15 см² бульона»]. Через 48 часов на фоне стерильной зоны появились редко расположенные, блестящие, прозрачные, мелкие колонии, которые при исследовании под микроскопом оказались очень светлыми с гладкой выпуклой поверхностью и ровными краями» (Рис. 26.5-a). «Ещё через 48 часов колонии эти несколько разрослись, но среди здоровых, не тронутых лизисом колоний, начали встречаться очень бледные, плоские тусклые колонии, почти тающие на глазах. Высевы этих гладких колоний на бульон и агар оставались стерильными, но бульону и агару тем самым сообщались лизогенные свойства: на этих средах не вырастал ни один штамм чумы». «В такой бульон мы засеяли одну петлю трёхсуточной агаровой культуры штамма № 46. Через 24 часа после содержания его при 30°С бульон равномерно замутился. Пересев из него на чашку с агаром обнаружил через 24 часа чистую культуру мелких, прозрачных, светлых колоний с ровными краями и гладкой выпуклой поверхностью» (Рис. 26.5-b). «Среди этих колоний не было заметно ни деформированных, ни бледных тающих колоний. Внезапно появившиеся, банальные, гладкие колонии морфологически были так мало сходны с чумой, что я вначале затруднилась связать эти колонии со штаммом чумы № 46, который растёт очень характерно… Дальнейшее исследование подтвердило чумную природу этого варианта».

[4] 1908–1981; советский (российский) врач, бактериолог. Академик Академии медицинских наук СССР (1948). Лауреат Сталинской премии 2 степени (1950). Заслуженный деятель науки РСФСР. Директор Института экспериментальной биологии (1948–1950). Главный судебно-медицинский эксперт на Хабаровском процессе (1949).

[5] Имеются сведения, что штамм мог относиться к псевдотуберкулёзному микробу.

реверсировал (т. е. возвращался) в R-форму (ЖВ-R). Со временем иммуногенность штамма стала падать, и поскольку он имел склонность к диссоциации (существованию в двух формах), от вакцины на его основе отказались.

Живые вакцины в виде жидкого препарата хранятся всего пару месяцев, поэтому важно сохранять исходные штаммы, чтобы изготавливать из них вакцины в случае необходимости. Несмотря на успех вакцин Магдалины Петровны Покровской и Евгении Ильиничны Коробковой, иммуногенность их штаммов оказалась ниже, чем штаммов R-форм, а со временем она и вовсе могла теряться. Кроме того, вакцины на их основе обладают выраженной реактогенностью, которая проявляется развитием общих (головная боль, слабость, повышение температуры) и местных (отёчность, регионарные лимфадениты) реакций в течение первых суток. На их фоне штаммы EV76 и EV НИИЭГ выигрывали, поскольку более стабильны. Они уже не могут восстановить свою вирулентность (при потере части хромосомы реверсия просто невозможна), а последний до сих пор используется в качестве производственной культуры для получения живой вакцины[1], многолетняя практика применения которой наглядно показала её иммунологическую эффективность[2].

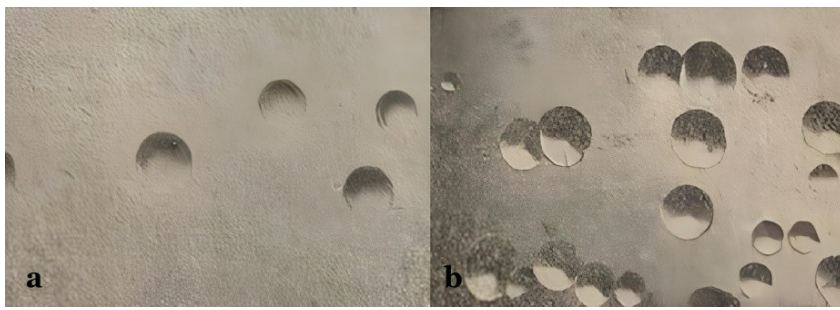


Рис. 26.5. *Культуры, полученные Евгенией Ильиничной Коробковой: a – колонии S-формы штамма Y. pestis 117; b – колонии S-формы штамма Y. pestis 46 (по Коробкова Е. И., 1934)*

[1] Система методов контроля активности и безвредности была разработана советским (российским) врачом Тамарой Ивановной Ани́симовой (1929–2022).

[2] Наравне с этим в Индонезии используют живую вакцину на основе аттенуированного штамма Харбин.

Причём после разработки Михаилом Михайловичем Файбичем (с коллегами) метода сублимационного высушивания в стабилизирующей среде срок хранения препарата увеличился до 3 лет!

Вместе с тем избирательная вирулентность, реактогенность, ограниченность применения для лиц с некоторыми наследственными заболеваниями, необходимость ежегодной ревакцинации (но невозможность осуществляния ревакцинации до истечения года с дня предыдущей), а также возможность потери иммуногенности и почти полное отсутствие защиты при аэрозольном заражении привели к поиску новых методов для создания вакцин. И самым простым примером здесь служат *живые рекомбинантные вакцины*, полученные на основе генетически модифицированных штаммов. В этой технологии существует два подхода: направленная мутация гена с целью утраты вирулентности и введение в геном генов авирулентности. Примером первого подхода [1] может служить YopH-мутантный штамм *Y. pestis* CO2, который не синтезирует YopH (т. е. не способен подавлять дейтвие иммунной системы), второго [2] – штамм *Y. pestis* χ10030(pCD1Ap), который синтезирует 6-ацильный ЛПС при 37°C (т. е. не способен уклоняться от иммунной системы). Вакцины на основе обоих штаммов обеспечивают невосприимчивость мышей к бубонной и первичной лёгочной формам чумы.

Похожим образом создаются *рекомбинантные векторные вакцины*, когда в аттенуированную бактерию (например, *Salmonella typhimuruim*) встраивают нужный ген чумного микроба, синтезирующий иммуногенный фактор, например, капульный антиген или LcrV. Примером [3] служит поливалентная вакцина на основе штамма *Salmonella typhimuruim* χ12094, который несёт гены, синтезирующие LcrV, пестицин и капсульный антиген. В качестве носи-

[1] Bubeck S. S., Dube P. H. *Yersinia pestis CO92 delta yopH is a potent live, attenuated plague vaccine*. Clin Vaccine Immunol. 2007; 14(9):1235–1238; DOI: 10.1128/CVI.00137-07.

[2] Sun W., Roland K. L., et al. *Developing live vaccines against Yersinia pestis*. J Infect Dev Ctries. 2011; 5(9):614-627; DOI: 10.3855/jidc.2030.

[3] Sanapala S., Rahav H., et al. *Multiple antigens of Yersinia pestis delivered by live recombinant attenuated Salmonella vaccine strains elicit protective immunity against plague*. Vaccine. 2016; 34(21):2410–2416; DOI: 10.1016/j.vaccine.2016.03.094.

теля может выступать и ближайший родственник чумного микроба – *Yersinia pseudotuberculosis*[1].

Другим видом вакцин являются *пептидные*, в которых используются не целые бактерии, а нуклеиновые кислоты или полипептидные последовательности. Такие вакцины перспективны для лиц с нарушениями иммунного статуса. Примером может служить вакцина[2], содержащая капсульный антиген и LcrV, а также протективный антиген (PA) *Bacillus anthracis*, обеспечивая иммунитет от чумы и сибирской язвы.

Химические вакцины похожи на пептидные, только антигенные детерминанты (химичсекие комплексы) для них получают путём специальной обработки клеточной культуры. Первым идею о возможности применения ограниченного числа антигенов для индуцирования формирования иммунитета выдвинул Николай Фёдорович Гамалея, однако только в начале нынешнего столетия в стенах противочумного иснтитута «Микроб» Саркисом Мкртычевичем Дальвадя́нцем[3] (с коллегами) была создана[4] первая чумная химическая вакцина, в которой в качестве химических комплексов используются капсульный антиген и основной соматический антиген (т. е. энтеробактериальный общий антиген; подробнее см. Главу 6).

Перспективным направлением исследований являются *ДНК-вакцины*, которые конструируются из плазмидных ДНК, кодирующих протективные (т. е. вызывающие иммунный ответ) антигены возбудителя. Будучи введённой в организм человека, с помощью специальных носителей ДНК проникает в клетку человека и пре-

---

[1] Derbicse A., Cerdà A., et al. *An encapsulated Yersinia pseudotuberculosis is a highly efficient vaccine against pneumonic plague*. PLoS Negl Trop Dis. 2012; 6(2):e1528; DOI: 10.1371/journal.pntd.0001528.

[2] Tao P., Mahalingam M., et al. *A bivalent Anthrax-Plague vaccine that can protect against two Tier-1 bioterror pathogens, Bacillus anthracis and Yersinia pestis*. Front Immunol. 2017; 8:687; DOI: 10.3389/fimmu.2017.00687.

[3] 1935–2008; советский (российский) врач, бактериолог, выделил «основной» соматический антиген возбудителя псевдотуберкулёза (*Yersinia pseudotuberculosis*). Доказал (совместно с Игорем Валериановичем Домарадским) возможность применения чумной живой вакцины для иммунопрофилактики псевдотуберкулёза.

[4] Дальвадянц С. М., Дятлов И. В., и др. *Исследования по иммунизации против чумы. Сообщение 4. Опыт ревакцинации волонтёров «химической» и живой чумной вакцинами*. Проблемы особо опасных инфекций. 2006; 1(91):57–61.

вращает её в своеобразный завод по производству протективного антигена, в качестве которого у *Y. pestis* выступают капсульный антиген или LcrV[1]. Для усиления протективности в плазмиду могут добавить участки, кодирующие иные белки. Так, например, созданная[2] ДНК-вакцина, несущая модифицированный ген *lcrV* и сигнальную последовательность человеческого тканевого активатора плазминогена (tPA), обеспечивала защиту мышей от интераназального заражения летальными дозами чумного микроба.

Развитие генной инженерии позволило создать *растительные вакцины* на основе трансгенных растений, в которых трансформированы (т. е. встроены) гены, кодирующие синтез протективных антигенов. Так, гены, кодирующие синтез капсульного антигена и LcrV (в виде слитого белка F1-V), были трансформированы[3] в листья салата! Вместе с тем хотя синтезируемый салатом антиген и обладает значительной иммуногенностью, его количество невелико (менее 1% от общего белка, содержащегося в листьях)[4].

Существуют и другие виды вакцин, такие как *конъюгированные*, которые обеспечивают связывание слабоиммуногенного антигена с высокоиммуногенным, что способствует усилению иммунного ответа на первый, и *микроинкапсулированные*, представляющие собой биодеградируемые микросферы (как правило, липофильные), содержащие антигены. Примером последних является вакцина чумная молекулярная микроинкапсулированная, созданная [5] в 2018 году в стенах Государственного научного центра прикладной

---

[1] Следует отметить, что поиск протективных антигенов бактерий и вирусов является важной проблемой в создании вакцин на современном этапе, поскольку из множества структур (антигенов) бактерии или вируса только сравнительно немногие «выступят» в роли протективных.

[2] Wang S., Helman D., et al. *A DNA vaccine producing LcrV antigen in oligomers is effective in protecting mice from lethal mucosal challenge of plague*. Vaccine. 2004; 22(25-26):3348–57; DOI: 10.1016/j.vaccine.2004.02.036.

[3] Rosales-Mendoza S., Soria-Guerra R.E., et al. *Expression of an immunogenic F1-V fusion protein in lettuce as a plant-based vaccine against plague*. Planta. 2010; 232(2):409–16; DOI: 10.1007/s00425-010-1176-z.

[4] В настоящее время такие растения используют для синтеза антигенов с последующим их концентрированием, хотя идея выращивать салат, употребление в пищу которого будет иммунизировать население, весьма перспективна.

[5] Дятлов И. А., Анисимов А. П., и др. *Вакцина чумная молекулярная микроинкапсулированная (ВЧММ)*. Бактериология. 2018; 3(1):74–75.

микробиологии и биотехнологии (Оболенск). Вакцина состоит из рекомбинантных капсульного антигена и LcrV, заключённых в микрокапсулы.

Нельзя обойти стороной и вакцины на основе *бактериальных теней* (BGs, от англ. **b**acterial **g**hosts), то есть клеточных оболочек, лишённых цитоплазматического содержимого, но сохранивших морфологию всех поверхностных структур (Рис. 26.6), что является следствием способности некоторых литических бактериофагов формировать трансмембранные туннельные структуры, пронизывающие внутреннюю и внешнюю мембраны бактерии, через которые, за счёт действия осмотрического давления, содержимое бактерии буквально «вытекает» во внешнюю среду. Впервые это явление было описано в 1985 году [1] на бактериофаге φX174. Белок E этого бактериофага ингибирует активность фермента фосфо-N-ацетилмурамоил-пентапетидной транслоказы (MraY), что приводит к слиянию внутренней и внешней мембран у активно растущих клеток и, как следствие, образованию трансмембранного туннеля 40–400 нм в диаметре на экваторе или полюсах бактериальной клетки. В случае чумного микроба, помимо белка E бактериофага φX174, применяют холин-эндолизиновые системы бактериофагов *λ* и *Л*-413С, которые приводят к образованию смесей из как сохранивших, так и полностью утративших исходную форму, определяемую пептидогликановым каркасом. Примечательно, что совместное использование белка E бактериофага φX174 и холин-эндолизиновой системы бактериофага *Л*-413С приводит к образованию структур, напоминающих коллапсированные (схлоп-

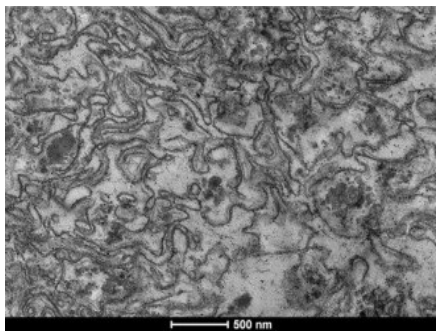


Рис. 26.6. *Трансмиссионная электронная микрофотография бактериальных теней (Dentovskaya S. V, 2021)*

[1] Bläsi U., Henrich B., et al. *Lysis of Escherichia coli by cloned phi X174 gene E depends on its expression*. J Gen Microbiol. 1985; 131(5):1107–1114; DOI: 10.1099/00221287-131-5-1107.

нувшиеся) мешочки. Исследования[1] показывают, что бактериальные тени чумного микроба эффективно защищают морских свинок при заражении их вирулентным штаммом[2], а в комбинации с капсульным антигеном и LcrV достоверно потенцируют протективность последних ещё и для мышей.

Следует отметить, что в настоящее время живые вакцины на основе аттенуированных (вакцинных) штаммов являются наиболее эффективными, поскольку способны обеспечивать иммунитет, по напряжённости близкий к постинфекционному (т. е. у переболевших), однако их применение запрещено в ряде стран (например, США) из-за необходимости введения живого объекта в организм человека. Кроме того, они имеют ограничение по сроку ревакцинации (каждые 12 месяцев), поскольку в более ранние сроки сохраняется достаточно напряжённый иммунитет, не позволяющий бактериям вакцинного штамма размножиться в достаточном количестве и персистировать в организме человека, увеличивая напряжённость иммунитета. По этой причине возможна ревакцинация субъединичными вакцинами (пептидными и химическими) и микроинкапсулированными[3].

Ежегодной вакцинопрофилактике в обязательном порядке подлежат лица, работающие с возбудителем[4]. В случае возникновения заболевания людей проводится вакцинация всего населения, нахо-

---

[1] Dentovskaya S. V., Vagaiskaya A. S., et al. *Peptidoglycan-Free Bacterial Ghosts Confer Enhanced Protection against Yersinia pestis Infection*. Vaccines (Basel). 2021; 10(1):51; DOI: 10.3390/vaccines10010051; Вагайская А. С. *Бактериальные тени Yersinia pestis*. Дис. … кандидата биологических наук. Оболенск, 2023, 126 с.

[2] Интересно, что гидролиз пептидогликана значительно повышает протективные свойства, что, вероятно, связано с возможным образованием при гидролизе множества молекул мурамилдипептида, которые врождённый иммунитет распознаёт как **молекулярный образец патогена** (PAMP, от англ. **p**athogen-**a**ssociated **m**olecular **p**attern).

[3] Все остальные рассмотренные в настоящей Главе вакцины ещё не внедрены в клиническую практику, хотя на этапе исследований некоторые демонстрируют явное превосходство. Необходимо также отметить, что ни одна вакцина не соответствует всем требованиям Всемирной организации здравоохранения.

[4] В случае наличия противопоказаний к вакцинации допуск к работе осуществляется приказом руководителя организации по письменному заявлению сотрудника.

дящегося на данной территории, в том числе детей в возрасте от двух лет[1]. При этом к контингентам повышенного риска относят:

- животноводов, имеющих постоянные стоянки на энзоотичной территории;
- работников фермерских хозяйств, расположенных на энзоотичной территории;
- заготовителей фуража и сена;
- охотников;
- членов семей животноводов, фермеров, заготовителей, охотников, которые могут посещать энзоотичную территорию (в том числе дети в возрасте с двух лет);
- сезонных рабочих добывающей и перерабатывающей промышленности;
- туристов, посещающих энзоотичную территорию.

Кроме того, вакцинации могут подлежать и животные, например, верблюды (при этом молоко верблюда возможно употреблять в пищу только после кипячения).

Ревакцинация населения прекращается через один год с момента последнего обнаружения возбудителя, а ревакцинация контингентов повышенного риска – через два года.

Стандартная схема вакцинации по эпидемиологическим показаниям (т. е. когда имеется вероятность заражения) для **живых вакцин** (на основе штамма *Y. pestis* EV) включает ревакцинацию *каждые 12 месяцев*. Вакцинацию осуществляют накожным, подкожным, внутрикожным и ингаляционным способами. В лиофилизат добавляют 1,8 мл физиологического раствора и растворяют в течение 3 минут (растворённая вакцина представляет собой гомогенную взвесь без примесей и хлопьев). Полученную взвесь отбирают с помощью стерильного шприца из ампулы и переносят в стерильный флакон, содержащий физиологический раствор с учётом того, что конечный объём соответствует объёму, указанному в инструкции.

[1] Для лиц со сниженной иммунной реактивностью (т. е. иммунодефицитом) составляется индивидуальный график вакцинации, чтобы на момент пика эпизоотической активности очага после вакцинации прошло не менее одного месяца, но не более шести.

Разведённую вакцину следует использовать в течение 2 часов, после чего уничтожить путём кипячения в течение 30 минут.

Накожный способ (способ Е. И. Коробковой). Вакцинацию осуществляют на наружной поверхности средней трети плеча, для чего оспопрививательным пером слегка соскабливают поверхностный слой эпидермиса в трём местах (у детей в одном или двух местах), предварительно обработав их 70%-ным раствором этилового спирта. Расстояние между участками составляет 3–4 см, площадь участка 1–1,5 см^2. На каждый участок пипеткой наносят необходимую дозу вакцины, после чего оспопрививательным пером через каждую каплю вакцины наносят по четыре горизонтальные и четыре вертикальные насечки длиной 1 см (насечки должны быть неглубокие, допускается выступание крови по типу «капель росы»). Затем в течение нескольких секунд пером тщательно втирают капли в кожу и дают им подсохнуть в течение 5 минут. Через 24–48 ч на месте введения вакцины могут возникнуть гиперемия и инфильтрат с последующим образованием по ходу насечек корочек желтоватого цвета.

Подкожный способ. Вакцинацию осуществляют ниже угла лопатки, предварительно обработав кожу 70%-ным раствором этилового спирта. Иглу шприца вводят в кожу под углом 45°.

Внутрикожный способ. Вакцинацию осуществляют в область наружной поверхности плеча, предварительно обработав кожу 70%-ным раствором этилового спирта. Иглу шприца вводят в кожу под углом 10–15°.

Ингаляционный способ. Вакцинацию осуществляют в специальных помещениях объёмом 50–150 м^3 и высотой 2,5–4,5 м при соотношении длины и ширины помещения не более, чем 2:1. Помещение должно хорошо проветриваться или быть оснащённым вытяжной вентиляцией. В лиофилизат добавляют 2 мл 10%-ного раствора лактозы (температура раствора должна соответствовать температуре хранения лиофилизата) и встряхивают до получения гомогенной взвеси без примесей и хлопьев. Полученную взвесь переносят в стерильный флакон, содержащий 10%-ный раствор лактозы с учётом того, что конечный объём соответствует объёму, указанному в инструкции. Полученную микробную суспензию в коли-

честве, определяемом объемом помещения (0,1 мл на 1 м³ помещения), заливают в резервуар пневматического распылителя эжекционного (вакуумного) типа. Распылитель устанавливается вертикально, соплом вверх, в центре помещения на высоте 80–120 см от пола. Распыление производят сжатым воздухом под давлением 1,2 атм до полного израсходования суспензии, залитой в резервуар. Сжатый воздух подается на распылитель до конца сеанса иммунизации, то есть 5 мин. Число людей, иммунизируемых за один сеанс, определяется из расчёта один человек на каждые 1,4–2 м³ помещения. После сеанса вакцинации помещение проветривают минимум 5 минут.

Дозы вакцины, зависящие от возраста и способа введения, приведены в Табл. 26.2 (женщин, кормящих грудью, прививают только накожным способом).

Вакцинацию верблюдов старше 2 лет проводят тридцатью взрослыми дозами. Поствакцинальный иммунитет сохраняется полгода.

Химическую вакцину используют для ревакцинации по эпидемиологическим показаниям не ранее, чем через 3 месяца после вакцинации живой вакциной (напомним, что ревакцинация живой вакциной возможна только через 12 месяцев). Препарат в виде 125 мкг растворяют в 0,5 мл физиологического раствора и вводят подкожно. При необходимости ревакцинацию химической вакциной проводят не только на третий месяц, но на шестой и девятый.

Вакцинацию **пептидными вакцинами** проводят внутримышечно. Детям старше 11 лет и взрослым вводят 1 мл вакцины. Ревакцинацию (0,2 мл вакцины) проводят через 4 недели и 6 месяцев. Возможна ускоренная схема, когда по 0,5 мл вакцины вводят с интервалом не менее 1 недели, однако эффективность этой схемы не определена. Детям младше 10 лет проводят вакцинацию и две ревакцинации в такие же интервалы, только меньшими дозами (Табл. 26.3).

Табл. 26.2. Схемы вакцинации (живая вакцина на основе штамма Y. pestis EV)

Возраст, лет	Доза вакцины			
	Внутрикожное введение	**Подкожное введение**	**Накожное введение**	**Ингаляционное введение**
2–6	1/3 дозы (100 млн ж. м. к.[1] в 0,1 мл)		1/3 дозы (1 млрд ж. м. к. в 0,05 мл, т. е. 1 капля)	
7–9	1/3 дозы (100 млн ж. м. к. в 0,1 мл)		2/3 дозы (2 млрд ж. м. к. в 0,1 мл, т. е. 2 капли)	
10–13	1/2 дозы (100 млн ж. м. к. в 0,1 мл)		1 доза (3 млрд ж. м. к. в 0,15 мл, т. е. 3 капли)	
14–60	1 доза (100 млн ж. м. к. в 0,1 мл)	1 доза (100 млн ж. м. к. в 0,5 мл)	1 доза (3 млрд ж. м. к. в 0,15 мл, т. е. 3 капли)	1 доза (5 млрд ж. м. к. в 0,15 мл)
> 60	1/3 дозы (100 млн ж. м. к. в 0,1 мл)		1 доза (3 млрд ж. м. к. в 0,15 мл, т. е. 3 капли)	

Табл. 26.3. Схемы вакцинации (пептидная вакцина)

Возраст / **Вид процедуры**	**Младше 1 года**	**1–4 года**	**5–10 лет**
	Дозы в мл		
Вакцинация	0,2	0,4	0,6
Ревакцинация	0,04	0,08	0,12

[1] Живых микробных клеток.

Вакцину чумную молекулярную микроинкапсулированную (ВЧММ) используют для специфической профилактики лиц (в том числе личного состава войск), действующих в чрезвычайных ситуациях, а также населения, проживающего на территориях природных очагов. Лицам в возрасте от 18 до 55 лет вводят 0,5 мл препарата подкожно. Продолжительность специфического иммунитета составляет не менее 90 дней (доклинические исследования на лабораторных животных показали сохранение протективного иммунитета в течение 180 суток после иммунизации). Возможно использование для ревакцинации после первичной вакцинации живой вакциной, с учётом индивидуального интегрированного показателя гуморального и клеточного иммунитета, что во многом способствует устранению нежелательных реакций организма на введение живой вакцины.



Евгения Ильинична Коробкова (третья справа в первом ряду), Павел Иванович Анисимов (второй справа во втором ряду) и Тамара Ивановна Анисимова (шестая справа в первом ряду) в окружении коллег (город Сочи, 1969 год). Фотография любезно предоставлена Андреем Павловичем Анисимовым (четвёртый справа в первом ряду)

AKT III

Altera pars





Форт «Александр I» («Чумной») Кронштадтской крепости

27 ФОРТ

…Жизнь и смерть предложил я тебе, благословение и проклятие. Так избери же жизнь, чтобы жил ты и потомство твоё...

Втор. 30:19

На палубе метео́ра[1], плывущего к острову Ко́тлин, стоит человек. Слабый ветерок треплет его волосы, а взору открывается старый форт, чьи стены покрыты толстым слоем копоти. Этот форт, носящий имя российского императора Александра I, пятнадцать лет выполнял функции Особой лаборатории, в стенах которой проводились исследования чумы и других особо опасных инфекций, а также производились противочумные сыворотки и вакцины.

С началом третьей пандемии чумы и возникшей угрозой распространения инфекции правительство Российской Империи приняло решение о создании централизованного оперативного органа, в ведении которого были бы руководство и координация всеми противочумными мероприятиями. Такой орган был создан 11 января 1897 года Указом последнего российского императора Николая II, получив название «Особая комиссия под председательством Его Высочества Принца Александра Петровича Ольденбу́ргского[2] для предупреждения занесения чумной заразы и борьбы с нею, в случае появления ея в Империи» или сокращённо КОМОЧУМ.

На одном из первых заседаний было принято решение о необходимости производства противочумных вакцин и сывороток, что

[1] Теплоход на подводных крыльях, за счёт которых при движении гидродинамические силы удерживают судно над поверхностью воды, что приводит к снижению сопротивления и, как следствие, значительному увеличению скорости. Выпускался в СССР с 1961 года, став визитной карточкой города Санкт-Петербург (Россия).

[2] 1844–1932; российский государственный деятель немецкого происхождения. Правнук великого герцога Ольденбургского Петра I и российского императора Павла I. Создатель и попечитель Императорского института экспериментальной медицины (ныне – Институт экспериментальной медицины). Принимал деятельное участие в создании Петербургской пастеровской станции.

было поручено Императорскому институту экспериментальной медицины, который использовал лошадей из конюшен принца Ольденбургского. Однако запросы на препараты росли, а расширение площадей грозило возникновением эпидемии в столице, поэтому стараниями председателя 26 января того же года институту был передан форт «Александр I», и уже осенью 1898 года Особая лаборатория развернула в нём работу. Врачебный персонал сначала состоял всего из трёх человек: Михаила Гавриловича Тартако́вского[1] (заведующего), Николая Михайловича Берестнёва[2] и Даниила Кирилловича Заболотного.

Помимо производства противочумных вакцины и сыворотки, а также обучения специалистов навыкам работы с возбудителями чумы и холеры[3], здесь проводили опыты с сурками, обезьянами, оленями и даже верблюдами. Все работы велись с девяти утра до шести часов вечера (с полудня до трёх часов – обед). Работы проводились с особыми предосторожностями. Сотрудники работали в брюках и халатах, которые после работы замачивались в карболовой кислоте. На голову надевался колпак, а на ноги – сапоги, которые мылись сулемой. Вскрытие животных проводилось в специальном изолированном помещении, сточные воды проходили обеззараживание паровым стерилизатором (автоклавом). Каждый посетитель должен был иметь специальный пропуск, но он был обязан покинуть стены форта до захода солнца. В случае малейшего подозрения на заболевание, объявлялся карантин. Связь с внешним миром осуществлялась посредством телефона (до Кронштадта) и телеграфа (до Санкт-Петербурга). Кроме того, до острова Кот-

[1] 1867–1935; украинский и советский ветеринарный врач, бактериолог, патолог. Директор института сравнительной патологии (1923–1932). Автор работ по чуме, чуме крупного рогатого скота, тифе птиц, сапа. Репрессирован.

[2] 1867–1910; белорусский врач, бактериолог. Заведующий Особой лабораторией (1904–1908), директор Московского бактериологического института (1908–1910). Автор работ по чуме, холере и малярии.

[3] Примерно в это же время во многих странах стали открывать похожие курсы. Так, к 1910 году Институтом инфекционных болезней (Япония), которым руководил Китасато Сибасабуро, было подготовлено 1293 специалиста. В настоящее время профессиональная подготовка по основам биологической безопасности и правилам работы с возбудителями особо опасных инфекций является одним из обязательных условий для допуска к работе с ними.

лин (город Кронштадт) ходил небольшой паром, имевший название «Микроб».

Несмотря на предпринимаемые меры безопасности, которые справедливо называть беспрецедентными для того времени, случаи «внутреннего» заражения случались. Так, 3 января 1904 года заразился Владислав Иванович Турчино́вич-Выжнике́вич[1], бывший тогда заведующим, проводивший опыты по ингаляционному заражению и участвовавший в приготовлении чумного токсина путём растирания микробов. Болезнь протекала стремительно (первичная лёгочная форма), и уже 7 января 1904 года он скончался. Второй жертвой чумы стал Мануил Фёдорович Шре́йбер[2], который заразился 12 февраля 1907 года в ходе экспериментов по изучению эндотоксического свойства противочумной сыворотки, используя вопреки правилам техники безопасности пипетки без ватных фильтров (произошло заглатывание эмульсии с бактериями). Через два дня развилась пневмония (первичная лёгочная форма), и уже 17 февраля он скончался.

Начавшаяся в 1917 году революция, привела к ликвидации КОМОЧУМа и Особой лаборатории, оборудование которой стараниями Алексея Ильича Бе́рдникова[3] было вывезено в город Саратов на кафедру микробиологии Императорского Николаевского университета. На базе этой кафедры по инициативе Александра Александровича Богомо́льца[4], Решением коллегии Народного комисса-

[1] 1865–1904; польский ветеринарный врач. Автор работ по чуме и сапу. Согласно легенде, урна (каменная ваза) с его прахом хранится в библиотеке Института экспериментальной медицины.

[2] 1866–1907; украинский военный врач, бактериолог, эпидемиолог. Автор работ по чуме.

[3] 1877–?; российский врач, бактериолог. Последний заведующий Особой лабораторией (1916–1917) и первый директор Института «Микроб» (1918–1921). Участвовал в ликвидации эпидемии чумы в Маньчжурии (1910–1911). В 1921 году эмигрировал в город Харбин (Китай). Судьба после 1930 года неизвестна.

[4] 1881–1946; украинский и советский врач, бактериолог, патолог, основатель отечественной патофизиологии, эндокринологии и геронтологии. Президент (1930–1946) Всеукраинской Академии наук. Академик (1932) и вице-президент (1942–1945) Академии наук СССР. Академик Академии медицинских наук СССР (1944). Герой социалистического труда (1944), лауреат Сталинской премии (1941). Организатор Высших женских курсов в городе Саратов (1917). Принял участие в создании (первого в мире) Института гематологии и переливания крови (ныне – Гематологический научный центр). Автор множества работ по различным направлениям медицины.

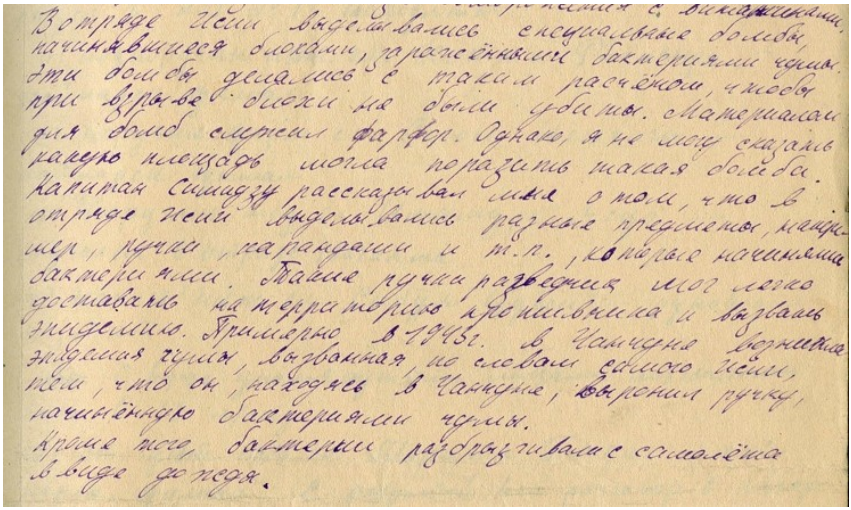
риата здравоохранения от 15 ноября 1918 года был открыт Краевой институт микробиологии и эпидемиологии Юго-Востока РСФСР. Уже в 1919 году в качестве почтового (секретного) кода было присвоено название «Микроб» (впоследствии вошедшее в название), как дань памяти Особой лаборатории и её парому. Выбор Саратова не случаен: он удалён от густо населённых городов. Ещё в 1914 году, когда существовала Особая лаборатория, говорили, что нельзя бороться с чумой из столицы.

Параллельно начинают появляться учреждения, целью которых является не предупреждение и ликвидация эпидемий, а разработка *биологического (бактериологического) оружия* на основе таких опасных микроорганизмов, как возбудители чумы и натуральной оспы[1]. Первые попытки его применения на практике осуществлялись ещё в годы Первой мировой войны и приняли бесчеловечный характер в годы Второй мировой войны[2]. Однако, несмотря на количество безвинно загубленных человеческих жизней, разработки продолжились, особенно в США и СССР во время так называемой холодной войны[3], которые использовали «результаты» Отряда 731. Официально от исследований наступательного характера в Форт-Де́трик (Fort Detrick; штат Мэриленд, США) отказались в 1969 году, однако разработка средств защиты видится невозможной без хотя бы теоретического представления (в той или иной мере) о возможных способах нападения. В СССР разрозненные лаборатории оформились в единую систему, получившую название «Почтовый ящик А-1063» (так называемый «Биопрепарат»), только в 1973 году, то есть на следующий год после принятия Конвенции о запрещении бактериологического оружия. Объекты «Биопрепарата» были разбросаны по всему Союзу, а их существование оправдывалось необходимостью паритета (т. е. равенства, соответствия) с американцами. Однако, как верно указывает Лев Александрович Фёдо-

[1] Благодаря усилиям Всемирной организации здравоохранения вирусы натуральной оспы (*Variola major* и *Variola minor*) ликвидированы в 1980 году, а их штаммы хранятся только в ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» (Россия) и в CDC (США).

[2] Имеются сведения о его применении всеми участниками.

[3] Глобальное противостояние США и СССР, а также их союзников в период с 1946 года по декабрь 1989 года, когда на Мальтийском саммите президент США Джордж Буш (1924–2018) и генеральный секретарь ЦК КПСС Михаил Сергеевич Горбачёв (1931–2022) объявили о её окончании.



Фрагмент (стр. 5) протокола допроса военнопленного Ямамо́то Се́оэй от 18 июля 1949 года:
«В отряде Исии выделывались специальные бомбы, начинявшиеся блохами, заражёнными бактериями чумы. Эти бомбы делались с таким расчётом, чтобы при взрыве блохи не были убиты. Материалом для бомб служил фарфор. Однако я не могу сказать, какую площадь могла поразить такая бомба. Капитан Симидзу рассказывал мне о том, что в отряде Исии выделывались разные предметы, например, ручки, карандаши и т. п., которые начинялись бактериями. Такие ручки разведчик мог легко доставить на территорию противника и вызвать эпидемию. Примерно в 1943 г. в Чанчуне возникла эпидемия чумы, вызванная, по словам самого Исии, тем, что он, находясь в Чанчуне, выронил ручку, начинённую бактериями чумы. Кроме того, бактерии разбрызгивали с самолёта в виде дождя».
Хранится в Центральном архиве Федеральной службы безопасности Российской Федерации (документ № 17)

ров[1], масштаб системы (только одно предприятие способно было изготавливать до 20 тонн бактерий в год!) был настолько огромен, что речь должна идти «не о паритете, а об очевидном превосходстве СССР над США». «Безусловное советское лидерство в подготовке к наступательной бактериологической войне» стало «необъявленным ассиметричным ответом». Система просуществовала вплоть до распада СССР в 1991 году, и сейчас обе страны (как и другие стра-

[1] 1936–2017; советский (российский) военный химик, эколог, создатель и руководитель Союза «За химическую безопасность».

ны) заявляют о соблюдении положений Конвенции. Вместе с тем отказаться полностью от исследований способов защиты от бактериологического оружия невозможно, поскольку патогенные микроорганизмы могут стать оружием в руках террористов. Тем не менее мир должен стремиться к тому, чтобы защищать человечество от особо опасных инфекционных болезней, а не использовать их в борьбе за геополитическое превосходство.

Если говорить конкретно о чумном микробе как агенте бактериологического оружия, то, по имеющимся данным, в Форт-Детрик от создания бактериологического оружия на основе чумного микроба быстро отказались, поскольку получаемый «результат» быстро утрачивал вирулентность. Напротив, в системе «Биопрепарат» исследования велись по целому ряду направлений: создание штаммов, несущих гены какого-нибудь токсина (в частности, миелинового, проект «Костёр»), создание полиантибиотикорезистентных штаммов (проект «Метод»), создание комбинаций штаммов, распространение которых с помощью бомб или распылительных установок должно было запутать врачей из-за противоречия клинических проявлений. Сложно сказать, были ли достигнуты какие-то значительные достижения в СССР (помимо ежегодного производства 1500 тонн чумного микроба), имеются сведения о получении антибиотикорезистентных штаммов и штаммов с повышенной вирулентностью, а также методик получения аэрозоля, в котором чумной микроб не терял вирулентность (собственно то, чего смогли добиться и в США).

Вместе с тем необходимо признать: бактериологическим оружием почти невозможно управлять и человеческие жертвы случались даже на этапе испытаний. Так, например, в 1972 году во время проведения испытаний на полигоне «Бархан», расположенном на острове Возрождения (сейчас Узбекистан), из-за внезапно изменившего направление ветра погибло двое рыбаков, случайно оказавшихся на лодке в акватории острова. В случае иных микроорганизмов случайных жертв было больше. Характерным примером является случай утечки возбудителя сибирской язвы (*Bacillus anthracis*) в 1979 году. Объект Свердловск-19[1] занимался производством спор

[1] Ныне Центр военно-технических проблем бактериологической защиты НИИ микробиологии МО РФ.

возбудителя сибирской язвы. В конце одной из смен некий сотрудник снял защитный фильтр, оставив об этом записку, но не внеся соответствующую запись в журнал. Следующая смена начала работу, и облако спор устремилось в воздух, гонимое ветром к близлежащим населённым пунктам и, в частности, городу Свердловску (ныне Екатеринбург, Россия). В результате погибло около 100 человек (официально 64 человека, по некоторым сведениям – 500 человек), а вспышки заболевания отмечались в 26 населённых пунктах по направлению к городу Челябинску (по направлению движения ветра). Официальной причиной эпидемии было объявлено заражённое мясо, несмотря на то, что у большинства заражённых отмечалась лёгочная форма заболевания, свидетельствующая об аэрогенном заражении. Причина произошедшего была столь очевидна, что в результате США возобновили программу по совершенствованию бактериологического оружия. Тем не менее в СССР продолжили скрывать правду (виновник заслуженного наказания не понёс), и только в 1992 году, уже после распада СССР, семьям пострадавших были назначены пенсии[1].

Опыт работы военных лёг в основу принципов *биологической безопасности*. Впоследствии благодаря работам Арно́льда Ве́дума[2], опубликованным[3] в начале 50-х годов прошлого столетия, и его упорству эти принципы стали распространяться на все лаборатории, и в настоящее время применяются всеми специалистами, выполняющими работы с *патогенными биологическими агентами* (ПБА). При этом под ПБА понимаются не только микроорганизмы, но любые агенты, способные вызывать заболевания, например, прионы или яды биологического происхождения. Существуют принципы биологической безопасности для того, чтобы не допустить распространение инфекций из лабораторий и больниц, по-

[1] Закон Российской Федерации № 2667-1 от 4 апреля 1992 года.

[2] Arnold Gerhard Wedum, 1903–1976; американский военный врач, специалист по биологической безопасности. Директор (1944–1969) отдела промышленного здравоохранения и безопасности Лаборатории биологического оружия в Форт-Детрик (U.S. Army Biological Warfare Laboratories), ликвидированной в 1969 году. Сыграл большую роль в работе Американской ассоциации биологической безопасности.

[3] Wedum A. G. *Nonautomatic pipetting devices for the microbiologic laboratory*. J Lab Clin Med. 1950; 35(4):648-651; Wedum A.G. *Bacteriological Safety*. Am J Public Health Nations Health. 1953; 43(11):1428–1437; DOI: 10.2105/ajph.43.11.1428.

скольку даже самое незначительное пренебрежение ими может привести к смерти. Ранее мы уже сталкивались с такими случаями: это и исследователь, умерший от вакцинного штамма (Глава 14), и Абрам Львович Берлин, не выдержавший обсервацию (Глава 15), и Мануил Фёдорович Шрейбер, неправильно использовавший пипетку («пипетировавший ртом»), и многие другие.

Разговор о биологической безопасности правильнее всего будет начать с классификации ПБА, поскольку от неё зависит то, насколько строгие меры следует применять.

Согласно классификации Всемирной организации здравоохранения[1] все ПБА подразделяются по опасности (риску) на четыре группы:

I группа – ПБА, потенциально не являющиеся возбудителями заболеваний человека или животных (индивидуальная или общественная опасность отсутствуют или незначительны);

II группа – ПБА, которые, хотя и могут вызывать заболевания, не представляют серьёзного риска для персонала, населения, домашнего скота или окружающей среды. Неосторожность в лаборатории может вызвать инфекцию, однако существуют доступные лечебные и профилактические меры (индивидуальная опасность умеренная, общественная опасность низкая);

III группа – ПБА, которые обычно вызывают серьёзное заболевание человека или животных, однако, как правило, не распространяются от больного человека к здоровому, при этом существуют эффективные способы лечения (индивидуальная опасность высокая, общественная опасность низкая);

IV группа – ПБА, которые обычно вызывают серьёзное заболевание человека или животных и легко распространяются, при этом эффективные способы лечения, как правило, отсутствуют (индивидуальная или общественная опасность высокие).

По этой классификации *Y. pestis* относится к III группе, поскольку имеются эффективные способы лечения.

---

[1] Laboratory biosafety manual. 3rd ed., World Health Organization, WHO/CDS/CSR/LYO/2004.11, 2004, 181 p.

Следует понимать, что каждая страна также имеет собственные классификации. Например, классификация, принятая в странах бывшего СССР, также разделяет ПБА по опасности (патогенности), но по сути является инверсией, поскольку к I и II группам патогенности относят особо опасные ПБА, к III группе – патогенные ПБА, а к IV группе – непатогенные и условно-патогенные ПБА. Согласно этой классификации *Y. pestis* является единственной бактерией, отнесённой к I группе патогенности (аттенуированные штаммы – к III группе).

Иной подход используют в США. Тут ПБА разделяют на категории в соответствии с тем, какую угрозу национальной безопасности они могут представлять в руках террористов:

категория A – ПБА, которые могут легко распространяться или передаваться от человека к человеку, приводят к высоким уровням смертности и могут иметь серьёзные последствия для общественного здравоохранения, способны вызвать общественную панику и социальные потрясения и требуют специальных действий по обеспечению готовности общественного здравоохранения;

категория B – ПБА, которые умеренно легко распространяются, приводят к умеренным показателям заболеваемости и низким показателям смертности, а также требуют конкретных улучшений диагностического потенциала и усиления эпиднадзора за болезнями;

категория C – новые ПБА, которые могут быть созданы для массового распространения в будущем из-за доступности, простоты производства и распространения, а также потенциально высоких показателей заболеваемости и смертности, серьёзных последствий для здоровья.

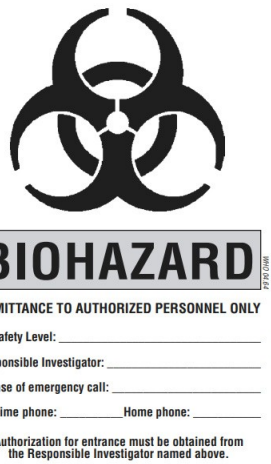
Как можно легко догадаться, *Y. pestis* отнесена к категории A.

В зависимости от группы (категории) ПБА и вида работ, проводимых с ним, лаборатории подразделяют на четыре *уровня биологической безопасности*, где лаборатории первого уровня имеют минимальную степень защиты, а лаборатории четвёртого уровня – максимальную (Табл. 27.1). Тем не менее общим для всех является разделение помещений лаборатории на «чистую» и «заразную» зоны,



▲ ***Рис. 27.1.*** *Знак «Биологическая опасность»*

▼ ***Рис. 27.2.*** *Табличка со знаком «Биологическая опасность», рекомендованная Всемирной организацией здравоохранения для размещения перед входом в лабораторию. Содержит указание на уровень лаборатории и контакты руководителя (ответственного лица). Может содержать требования, предъявляемые к посетителями (например, иммунизация)*



отделяемые друг от друга санитарным пропускником (санпропускником), в котором происходит смена личной одежды и обуви на рабочую. Перед входом в лабораторию, а также на границе зон (санпропускнике) вывешивается знак «Биологическая опасность» (Рис. 27.1 и 27.2).

Следует помнить, что при схожих критериях в разных странах могут применяться различные обозначения. Так, например, в России используют обозначение УББ (от рус. «**у**ровень **б**иологической **б**езопасности»)[1], а в Канаде – CL (от англ. **C**ontainment **l**evel)[2]. Здесь мы будем использовать международное обозначение, принятое Всемирной организацией здравоохранения – BSL (от англ. **B**io**s**afety **l**evel)[3].

Как можно видеть из Табл. 27.1, работу с возбудителем чумы проводят в лабораториях уровня **не ниже** BSL-3 (Рис. 27.3). Эти лабора-

[1] *Санитарные правила и нормы СанПиН 3.3686–21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней»*, утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28 января 2021 года № 4.

[2] *Canadian Biosafety Standard, Third Edition*. Public Health Agency of Canada (Cat.HP45-7/2022E-PDF), 2022, 166 p.

[3] Laboratory biosafety manual. 3rd ed., World Health Organization, WHO/CDS/CSR/LYO/2004.11, 2004, 181 p.

Табл. 27.1. Классификация лабораторий по уровню

Уровень лаборатории	**Вид проводимых работ**	
	Согласно Всемирной организации здравоохранения	**По классификации стран СНГ**
Базовые лаборатории		
BSL-1	I группа: все виды работ. Обучение, исследование	IV группа: все виды работ.
BSL-2	I группа: все виды работ. II группа: все виды работ с небольшими объёмами и невысокими концентрациями	III-IV группа: все виды работ. II группа: работы без накопления (культивирования или концентрирования)
Изолированная (сдерживающая) лаборатория		
BSL-3	II группа: все виды работ с большими объёмами и высокими концентрациями. III групп: все виды работ	II группа: все виды работ. I группа: все виды работ с чумой и работы с вирусами, кроме накопления (культивирования или концентрирования) вирусов
Максимально изолированная лаборатория		
BSL-4	IV группа: все виды работ	I группа: все виды работ. Работы с микроорганизмами, ассоциированными с клиническими проявлениями, характерными для ПБА I-II групп, таксономическое положение которых не определено, а степень опасности не изучена; экспериментальные исследования штаммов со множественной устойчивостью к антибиотикам и химиопрепаратам; аэробиологические исследования с ПБА I–II групп

тории являются инженерно-строительными конструкциями со сложной ограждающей (барьерной) системой, вклад в обеспечение предотвращения выхода ПБА во внешнюю среду которой не меньше, чем профессионализм сотрудников. Располагают их, как правило, обособленно на охраняемых территориях. Санпропускник такой лаборатории включает в себя два помещения, разделённых душевой (стенка душевой, прилегающая к «чистой» зоне, является границей зон). Как правило, душевая устроена таким образом, что сотрудники входят в «заразную» зону, минуя её, а выходят строго через неё. Проходы «заразной» зоны оснащены двойными дверьми, устроенными таким образом, что открыть вторую дверь возможно только после закрытия первой. Обязательными условиями, предъявляемыми к сотрудникам такой лаборатории, является наличие специальной подготовки (знания правил биологической безопасности проверяются комиссией с определённой периодичностью), медицинское наблюдение и вакцинация (если от возбудителя имеется вакцина и у сотрудника отсутствуют противопоказания к вакцинации[1]). Отличительной особенностью работы в лабораториях уровней BSL-3 и BSL-4 является соблюдение *принципа парности*, согласно которому работу с ПБА осуществляют два специалиста, один из которых обязательно относится к старшему медицинскому персоналу.

В «чистой» зоне размещаются помещения, где осуществляются подготовительные работы: мойка чистой лабораторной посуды, приготовление, розлив и стерилизация питательных сред, работа с документами. Тут же имеются комнаты отдыха, поскольку непрерывная работа с ПБА разрешается не более 4 часов, после которых положен отдых не менее получаса[2].

[1] В такой ситуации допуск к работе осуществляется по личному заявлению сотрудника на основании приказа руководителя организации. При этом они не допускаются к работе в аэрозольных лабораториях, с материалом, заражённым или подозрительным на заражённость возбудителями Ку-лихорадки, а также к работам с ПБА, в отношении которых не разработаны методы специфического лечения.

[2] На практике во время вспышек это правило нарушается и чаще всего лаборатория переходит на режим круглосуточной работы. Как писал Игорь Валерианович Домарадский, во время вспышки холеры в Каракалпакии (ныне – суверенная республика в составе Узбекистана) в 1960-х годах «все работали почти без сна, но с большим энтузиазмом».

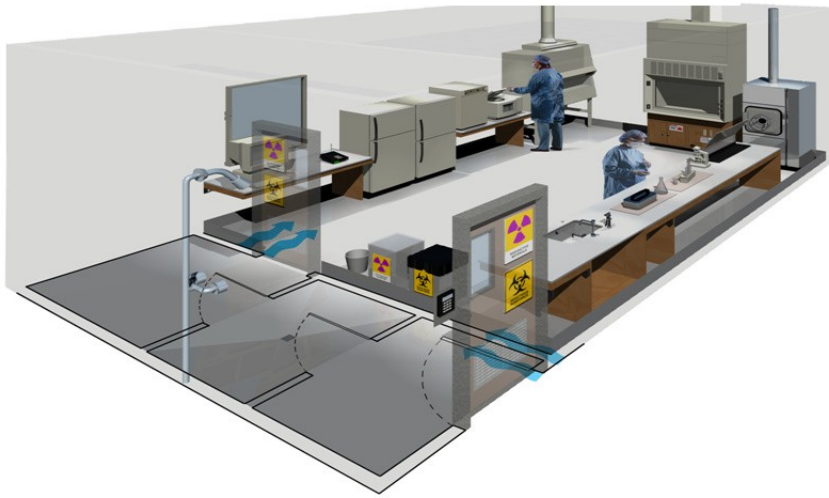


Рис. 27.3. *Пример лаборатории уровня BSL-3. Можно видеть знаки «Биологическая безопасность» на входе в лабораторию и в боксированное помещение, кодовый замок для входа, санпропускник с душевой (обратите внимание, что «вход» и «выход» проходят по одному маршруту, что нарушает поточность) и направление потока воздуха. В боксированном помещении имеется окно, что запрещено в ряде стран (модель предоставлена лабораторией CIIH2A, город Принстон, штат Нью-Джерси, США; публикуется по лицензии Всемирной организации здравоохранения)*

В «заразной» зоне размещаются боксированные помещения (т. е. имеющие небольшой тамбур (предбокс) для надевания и снятия защитного костюма), в которых осуществляется приём материала, а также проводятся микробиологические и иммунологические исследования. При входе также вывешивается знак «Биологическая опасность». Кроме того, имеются помещения для детекции нуклеиновых кислот, ведения записей и обеззараживания материала (автоклавная), из которого обеззараженный материал поедет на утилизацию, а обеззараженные инструменты и защитная одежда попадут в помещение «чистой» зоны для мойки и подготовки к работе. Для этих целей удобнее всего использовать проходной паровой стерилизатор (проходной автоклав), который устанавливается в стену лаборатории таким образом, что загрузка материала осуществляется в «заразной» зоне, а выгрузка – в «чистой». Это один из примеров того, что называют *обеспечением поточности*, при

котором лаборатория спроектирована и оборудование в ней размещено таким образом, что пути движения ПБА, персонала и отходов не пересекаются. На границе зон также размещаются шлюзы для передачи оборудования и материалов, когда это необходимо[1]. Устройство шлюза позволяет провести дополнительное обеззараживание воздуха, попавшего в него из «заразной» зоны перед его открытием со стороны «чистой» зоны.

Между «чистой» и «заразной» зонами обеспечивается разница давления (разрежение): 50 Па (5 мм водного столба) для диагностических лабораторий и 100 Па (10 мм водного столба) для исследовательских[2]. Разница давления осуществляется за счёт герметичности помещений, открывающихся наружу дверей и работы сложной системы приточно-вытяжной вентиляции, при которой весь попадающий в «заразную» зону воздух проходит через HEPA-фильтр[3] класса H13 (≥99,95%), а выходящий из неё – класса H14 (≥99,995%). При этом в случае работы с возбудителем чумы разрежение обеспечивают не менее 100 Па и используют фильтры только класса H14: один на «вход» и каскад из двух на «выход»! Контроль работы этой системы осуществляется ежедневно по показателю аэродинамического сопротивления фильтров (т. е. разнице давления до и после фильтра).

Жидкие отходы, образующиеся в процессе работы, обеззараживаются химически и термически, а стоки от гигиенического душа – только термически. Системы обработки, оснащённые устройством предотвращения обратного тока, обеспечивают сбор, обеззараживание, охлаждение и сброс сточных вод. Похожие системы, представляющие собой резервуар, в котором после накопления стоков

---

[1] Через санитарный пропускник в «чистую» зону можно выносить только ключи, печати и записи, подвергнутые дезинфекционной обработке (чаще всего, вымачиванию в растворе дезинфектанта, поэтому все записи производятся карандашом).

[2] Средняя скорость воздушного потока на границе зон должна быть не менее 0,4 м/сек, что проверяется каждые полгода.

[3] От англ. **h**igh **e**fficiency **p**articulate **a**ir; высокоэффективные фильтры, применяемые для улавливания мелких частиц. Разработаны в 40-х годах прошлого столетия в США для улавливания радиоактивных частиц на предприятиях ядерной промышленности. В СССР использовались фильтры на основе «ткани Петря́нова», изобретённые Игорем Васильевичем Петря́новым-Соколо́вым (1907–1996). Данная ткань состоит из хлорированного поливинилхлорида (перхлорвинил; $[C_nH_{2n+2-x}Cl_x]$, где $n < 2x < 2n$), нанесённого на марлю тонким слоем в виде полимерных волокон.

происходило их обеззараживание, имелись ещё в Особой лаборатории.

Боксированное помещение является наиболее защищённой частью лаборатории (его ещё называют блоком максимальной защиты или неформально «коробка в коробке»). Оно герметично и отделано неадсорбирующими, непылящими, негорючими материалами, которые легко моются и устойчивы к действию дезинфектантов. Стыки между горизонтальными и вертикальными поверхностями закруглены, а гидроизоляция пола заведена на стены на высоту не менее полутора метра. Системы электроснабжения, как правило, закрепляются на металлических конструкциях чуть ниже потолка. Как и все помещения «заразной» зоны, боксированные помещения снабжены ультрафиолетовыми лампами, которые включаются после работы на полчаса и минимум раз в неделю протираются 70%-м раствором этилового спирта для удаления пыли.

В боксированных помещениях размещаются *боксы биологической безопасности* (англ. Biosafety cabinet, BSC; в русскоязычной литературе – БМБ), представляющие собой герметичное устройство, содержащее механическую систему вентиляции, которая обеспечивает контролируемое движение воздуха через внутреннюю полость (пленум) устройства и фильтры. Поскольку БМБ является эффективным первичным барьером, все работы с ПБА проводят в них.

Первый аналог современного БМБ был спроектирован [1] в 1943 году Мари́нусом ван ден Энде[2] в стенах Национального института медицинских исследований (Великобритания) под пристальным надзором военных. И хотя похожие устройства были известны ещё с начала XX века (например, Роберт Кох спроектировал и использовал для работы бокс «биологического сдерживания»), они не обеспечивали достаточную степень защиты.

---

[1] Van den Ende M. *An apparatus for the safe inoculation of animals with dangerous pathogens*. J Hyg (Lond). 1943; 43(3): 189–195; DOI: 10.1017/s0022172400012808.

[2] Marinus van den Ende, 1912–-1957; южноафриканский и британский врач голландского происхождения, бактериолог, патолог. Член Королевского общества Южной Африки (1954). Автор работ по риккетсиям и гигиене воздуха.

В настоящее время боксы делятся на 3 класса в зависимости от обеспечения защиты оператора (сотрудника) и продукта (ПБА). БМБ I класса обеспечивает защиту сотрудника, но не продукта. Это осуществляется за счёт всасывания воздуха через переднее отверстие с минимальной скоростью 0,7–1 м/с во внутреннее пространство бокса, его циркулирования над рабочей поверхностью (столешницей) и последующего выбрасывания через фильтр в вентиляционную систему лаборатории (Рис. 27.4).

БМБ II класса обеспечивает защиту сотрудника и продукта. Это обеспечивается за счёт всасывания воздуха через переднее отверстие во внутреннее пространство бокса и последующее его попадание в насос через перфорацию в переднем крае рабочей поверхности. Оттуда воздух поднимается в верхнюю камеру, где его часть через фильтр проходит во внутреннее пространство бокса и ламинарным потоком спускается на рабочую поверхность. Важно понимать, что часть потока спускается по стеклянной створке, создавая «завесу» в переднем отверстии, что также защищает оператора и продукт. Далее, через отверстия по периметру рабочей поверхности воздух снова попадает в насос и поднимается в верхнюю камеру. Там часть воздуха снова рециркулирует через фильтр во внутреннее пространство бокса, а часть через фильтр будет выброшена в помещение или вентиляционную систему лаборатории (Рис. 27.5 и Рис. 27.6). В зависимости от скорости входящего потока и рециркуляции воздуха БМБ II класса существуют в четырёх вариантах (типы A1, A2, B1 и B2). Так, у бокса типа A1 воздух всасывается с минимальной скоростью не менее 0,4 м/с, а у боксов типов A2, B1 и B2 – с минимальной скоростью 0,51 м/с. У боксов типов A1 и A2 на рециркуляцию во внутреннее пространство бокса отправляется 70% воздуха, тогда как бокса типа B1 – 30%. У бокса типа B2 воздух на рециркуляцию не подаётся: один воздушный поток всасывается через переднее отверстие во внутреннее пространство бокса и, пройдя через перфорацию и фильтр, выбрасывается в помещение или вентиляционную систему лаборатории, а второй воздушный поток засасывается из помещения в фильтр верхней камеры, откуда ламинарным потоком спускается на рабочую поверхность и, пройдя через перфорацию и фильтр, также выбрасывается в помещение или вентиляционную систему лаборатории.

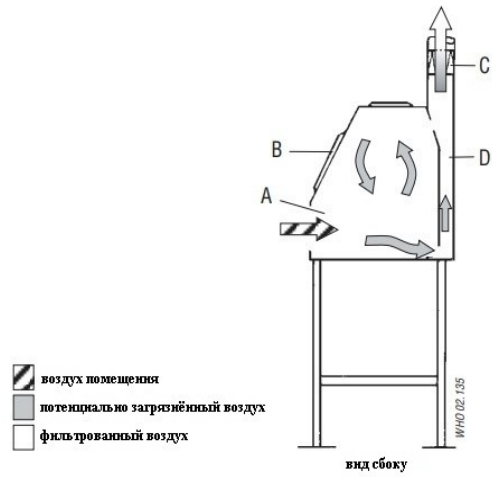


Рис. 27.4. *БМБ I класса: воздух помещения всасывается через переднее отверстие (A) с минимальной скоростью 0,7–1 м/с во внутреннее пространство бокса, циркулирует над его рабочей поверхностью (столешницей) и через вытяжной канал (D) и фильтр (C) выбрасывается в вентиляционную систему. Оператор осуществляет работу через переднее отверстие (A), визуальный контроль – через стекло (B)*

БМБ III класса был изобретён в 1943 году солдатом Хьюбертом Ке́мпфом-младшим под руководством Арнольда Ведума в Форт-Детрике. Бокс этого класса представляет собой герметичную камеру, обеспечивающую максимальную защиту, поэтому он используется для работ с наиболее опасными ПБА. Поток воздуха внутрь камеры подаётся из помещения (или вентиляционной системы лаборатории) через фильтр и выводится в вентиляционную систему лаборатории через систему других фильтров, при этом внутри камеры создаётся отрицательное давление (не менее 200 Па или 20 мм водного столба по отношению к помещению). Работа с ПБА осуществляется оператором через специальные манжеты. Бокс может быть оснащён системой подачи воды, а также ёмкостью (или системой слива) для жидких отходов (Рис. 27.7).

Боксы располагают на удалении от отопительных приборов и сильных воздушных потоков (зон подачи и вытяжки), в местах, где они не будут создавать помех для поточности движения ПБА и персонала. Проверку исправности их функционирования (защитную эффективность) проверяют ежегодно, а также после монтажа (введения в эксплуатацию), смене фильтра или перемещении на расстояния больше 10 см. Защитная эффективность БМБ подтверждается только в случае соответствия эксплуатационным характеристикам:

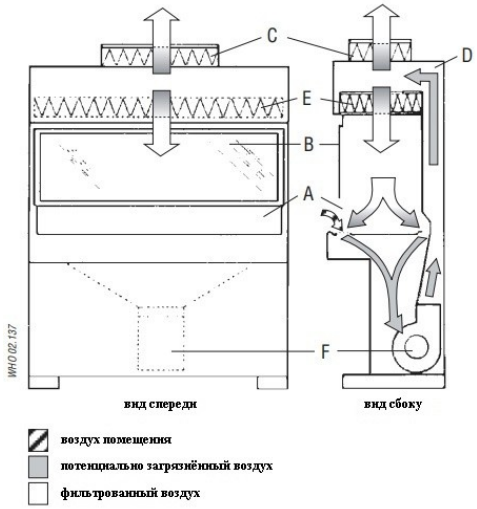


Рис. 27.5. *БМБ II класса (тип A1): воздух помещения всасывается через переднее отверстие (A) с минимальной скоростью 0,38–0,51 м/с во внутреннее пространство бокса, проходит через перфорацию, расположенную на переднем крае рабочей поверхности (столешницы), в насос (F), от которого поднимается в верхнюю камеру D. Благодаря разнице в размере фильтров (C и E) около 70% воздуха через фильтр (E) ламинарным потоком спускается на рабочую поверхность (в том числе по стеклянной створке), проникая через перфорации, расположенные по краям рабочей поверхности (столешницы), в насос (F), из которого поднимается в верхнюю камеру D. Отсюда около 70% воздуха снова рециркулирует через фильтр (E), а оставшиеся 30% воздуха через фильтр (C) выбрасывается в помещение (или через специальную насадку выводится в вентиляционную систему лаборатории). Оператор осуществляет работу через переднее отверстие (A), визуальный контроль – через стеклянную створку (B)*

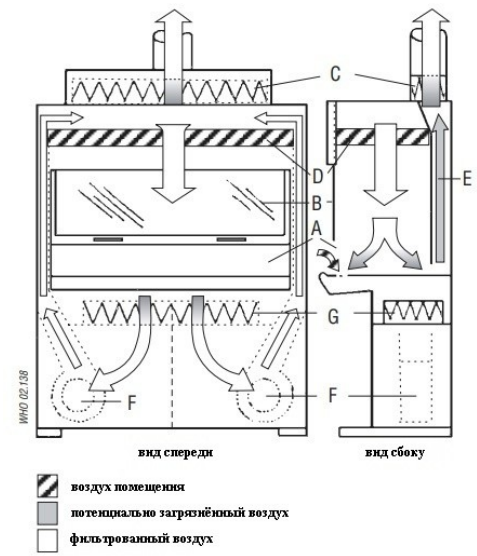


Рис. 27.6. *БМБ II класса (тип B1): воздух помещения всасывается через переднее отверстие (A) с минимальной скоростью 0,51 м/с во внутреннее пространство бокса, проходит через перфорацию, расположенную на переднем крае рабочей поверхности (столешницы), в насосы (F), от которых поднимается (E) в верхнюю камеру. Благодаря разнице в размере фильтров (C и D) около 30% воздуха через фильтр (D) ламинарным потоком спускается на рабочую поверхность (в том числе по стеклянной ►*

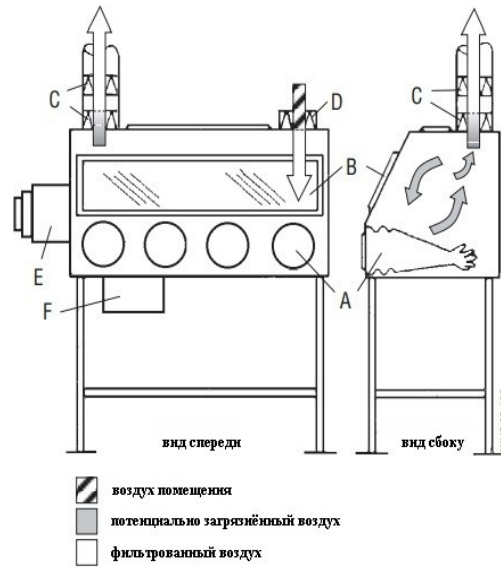


Рис. 27.7. *БМБ III класса: воздух из помещения (или вентиляционной системы лаборатории) через фильтр (D) подаётся во внутреннее герметичное пространство бокса, откуда выводится в вентиляционную систему лаборатории через фильтры (C); внутри бокса создано отрицательное давление около 124,5 Па (12,45 мм водного столба). ПБА подаётся через шлюз (E), работа осуществляется с помощью манжет (A). Для отходов используется встроенная ёмкость (E)*

БМБ I класса:

- средняя скорость входящего потока 0,7–1 м/с вдоль всего сечения рабочего проёма;
- защитная эффективность фильтра соответствует методике контроля.

БМБ II класса:

- средняя скорость входящего потока больше 0,4 м/с вдоль всего сечения рабочего проёма;
- средняя скорость нисходящего потока 0,25–0,5 м/с;
- однородность нисходящего потока ±20% от среднего значения;

◄ *створке), проникая через перфорации, расположенные по краям рабочей поверхности (столешницы), в насосы (F), из которых поднимается (E) в верхнюю камеру. Отсюда около 30% воздуха снова рециркулирует через фильтр (D), а оставшиеся 70% воздуха через фильтр (C) выбрасывается в вентиляционную систему лаборатории. Оператор осуществляет работу через переднее отверстие (A), визуальный контроль – через стеклянную створку (B)*

– направление нисходящего потока по всему сечению камеры бокса;
– защитная эффективность фильтра соответствует методике контроля.

БМБ III класса:

– средняя скорость входящего потока больше 0,7 м/с через перчаточный порт при одной снятой перчатке;
– удельный расход потока воздуха 0,05 м³/с на 1 м³ объёма рабочей камеры бокса
– разрежение в рабочей камере бокса по отношению к помещению больше 200 Па;
– защитная эффективность фильтра соответствует методике контроля.

Работу в БМБ осуществляет один специалист (за исключением специальных боксов для парной работы). Если предстоит работа за новым боксом либо боксом, которым кто-то пользовался, первым делом следует убедиться в наличии сертификата проверки защитной эффективности (он должен быть вывешен на внешней поверхности бокса и свидетельствовать, что со времени последней проверки прошло меньше одного года), а после провести уборку внутренних поверхностей раствором дезинфектанта. Целесообразно протереть 70%-ным раствором этилового спирта нестерильные инструменты многоразового использования[1].

Вся рабочая поверхность условно разделяется на зоны: «чистую», «условно грязную» и «грязную», в которых выполняются работы. Например, чашки со средами для посева лежат в «чистой» зоне, посев культуры осуществляется в «условно заразной», а засеянные чашки кладутся в «грязную» зону. Тут же располагается контейнер с раствором дезинфектанта для сброса инструментов (наконечни-

[1] Особенно это касается автоматических дозаторов, поскольку грязь, скопившаяся внутри его носика (на который насаживается одноразовый наконечник), может существенным образом повлиять на качество работы. Если Вы работаете с кристаллизирующимися растворами, хотя бы раз в несколько дней прогоняйте поршень дозатора, уперев носик (без наконечника) в салфетку, обильно смоченную 70%-ным раствором этилового спирта.

ков, пипеток, петель)[1]. Ещё один небольшой контейнер с раствором дезинфектанта (для мытья рук и протирки засеянных чашек) располагают в «чистой» зоне.

Удобнее всего располагать «чистую» зону слева, а «грязную» – справа. В «условно грязной» зоне ставят лоток с невысокими краями, в который кладут салфетку (плотно сложенную марлю), смоченную раствором дезинфектанта. Все работы с ПБА осуществляются только над этим лотком. В него же ставят горелку или спиртовку (для обжига петли и горлышка пробирки). Несмотря на то, что бокс значительно повышает защищённость сотрудника и окружающей среды, перед каждым выниманием рук из внутреннего пространства бокса (рабочей камеры), их следует обрабатывать раствором дезинфектанта. Также следует поступать и с предметами (чашками Петри, пробирками), которые вынимаются из бокса, например, для помещения в термостат. После окончания работы все многоразовые инструменты протирают раствором дезинфектанта. Салфетку, лежащую в лотке («условно заразная» зона), сворачивают по методу конверта (сводят концы к центру) и опускают в контейнер с раствором дезинфектанта («грязная» зона). Салфеткой, смоченной раствором дезинфектанта, протирают рабочую поверхность (столешницу), перемещаясь от «чистой» зоны к «грязной» (также протирают лоток). Также протирают чашки, которые помещают либо в контейнер для последующего обеззараживания (говорят: «убивки»), либо в контейнер для транспортировки в термостат, соблюдая принцип парности[2]. Включают ультрафиолетовую лампу бокса, которую минимум раз в неделю протирают 70%-ым раствором этилового спирта для удаления пыли. Через 30 минут лампу выключают и протирают поверхности бокса дистиллированной водой.

Работа с ПБА требует повышенного внимания и концентрации. Пока чашка открыта или материал находится на петле, всё внимание должно быть обращено на него вплоть до момента закрытия

[1] В раствор дезинфектанта добавляют 0,5% ПАВ (моющего средства) для очистки инструментов.

[2] Чашки в термостат помещают крышками вниз, чтобы образующийся конденсат не смывал культуру (в случае работы с мицелиальными грибами чашки помещают крышками вверх, чтобы споры гриба не падали на крышку).

чашки и уничтожения остатков материала. Тем не менее мы все люди, поэтому возможно допущение ошибок (в том числе на этапе упаковки материала, подозрительного на ПБА), аварийных ситуаций, которые, в свою очередь, приводят к *авариям*, то есть ситуациям, приводящим к резкому возрастанию риска заражения персонала, окружающей среды и посторонних людей. В случае возникновения аварии **важно** не скрывать её, поскольку в худшем случае это может привести к летальным исходам (как в случае Свердловска-19), но строго выполнять порядок действий, зависящий от вида аварии. Порядок действий в разных лабораториях может несколько отличаться, но в целом он сводится к следующим основным этапам.

Авария без разбрызгивания ПБА: во время быстрого обжига петли огарок упал на стол, на стеклянной посуде с ПБА образовалась трещина, коснулись петлёй наружной части пробирки или чашки. В этой ситуации выполняются следующие действия:

Сотрудник, у которого произошла авария	***Напарник (любой сотрудник, находящийся в помещении)***
сообщает напарнику (находящимся в помещении) об аварии – сигнал «авария»	принимает сигнал «авария»
↓	↓
место аварии (куда упал огарок или где стоит посуда) покрывается салфеткой, смоченной раствором дезинфектанта	включает аварийную сигнализацию
↓	↓
заворачивает в салфетку огарок, посуду или контаминированный предмет (если авария произошла над лотком, то контаминированный предмет, огарок или посуду можно завернуть в салфетку, над которой проводились работы, по методу конверта – путём сведения её концов к центру)	извещает руководство об аварии
↓	

погружает в специальный лоток или пакет для автоклавирования
↓
обрабатывает перчатки раствором дезинфектанта
↓
покрывает место аварии салфеткой, смоченной раствором дезинфектанта, на 30 минут
↓
продолжает работу с разрешения руководства

Данный вид аварии является наиболее распространённым и, к сожалению, наиболее скрываемым. Кроме того, некоторые специалисты полагают, что если ПБА упал на лоток (то есть салфетку, смоченную раствором дезинфектанта) или контейнер с раствором дезинфектанта, то он обеззаразился, поэтому это не стоит считать аварией. Другие полагают, что в момент падения образуется аэрозоль, поэтому данный вид аварии следует считать аварией с разбрызгиванием ПБА.

Другим видом аварии без разбрызгивания является касание петлёй с ПБА защитного костюма. Если произошло касание перчаток, то на место касания накладывается салфетка, смоченная раствором дезинфектанта, и наружная (её называют верхней) перчатка снимается путём выворачивания с последующим погружением в контейнер с раствором дезинфектанта (куда сбрасываются инструменты). Надев новую перчатку, сотрудник продолжает работу. Если же произошло касание рукава защитного костюма, то на место касания накладывается салфетка, смоченная раствором дезинфектанта. Сотрудник сообщает об аварии напарнику (находящимся в помещении), который завершает работу и, выйдя вместе с сотрудником в предбокс, помогает ему снять защитный костюм, который помещается в контейнер с раствором дезинфектанта. С разрешения руководства они возвращаются к работе.

Авария с разбрызгиванием ПБА: бой стеклянной посуды с ПБА, разбрызгивание бактериальной суспензии из пипетки или шприца, разбрызгивание биологических жидкостей при вскрытии трупов, стекание биологической жидкости с крышки контейнера во время его вскрытия, а также любые события, при которых образуется аэрозоль из ПБА, в том числе при работе на вакуумной установке в процессе сушки культур, работе с центрифугой и транспортировке ПБА между подразделениями и в автоклавную. В случае, когда авария произошла *внутри* БМБ, выполняются следующие действия (**важно:** *не паниковать и выполнять все движения плавно (!), чтобы не нарушить защитный экран – ламинарный поток воздуха, закрывающий переднее отверстие БМБ*):

Сотрудник, у которого произошла авария	***Напарник (любой сотрудник, находящийся в помещении)***
сообщает напарнику (находящимся в помещении) об аварии – сигнал «авария»	принимает сигнал «авария»
↓	↓
завершает работу (покрывает салфеткой, смоченной раствором дезинфектанта, место разлива + сбрасывает пипетку (шприц) в контейнер с раствором дезинфектанта или заворачивает разбитую посуду в салфетку, лежащую на лотке и смоченную раствором дезинфектанта)	включает аварийную сигнализацию
↓	↓
обрабатывает руки (перчатки и рукава костюма) раствором дезинфектанта	все сотрудники закрывают переднее отверстие бокса (способ закрытия зависит от конструкции) или, если есть возможность, завершают работу
↓	↓
снимает верхнюю пару перчаток	
↓	
погружает их в контейнер с раствором дезинфектанта	

↓

аккуратно вытаскивает руки из БМБ

↓

закрывает переднее отверстие БМБ (способ закрытия зависит от конструкции)

↓

включает ультрафиолетовую лампу БМБ[1]

↓

все сотрудники выходят в предбокс

↓

включают ультрафиолетовую лампу помещения

↓

обрабатывают верхнюю пару перчаток раствором дезинфектанта

↓

снимают и помещают в контейнер с раствором дезинфектанта

↓

аккуратно снимают защитный костюм и помещают его в контейнер с раствором дезинфектанта

↓

снимают внутреннюю (её называют нижней) пару перчаток и помещают их в контейнер с раствором дезинфектанта

↓

обрабатывают руки 70%-м раствором этилового спирта и моют руки с мылом

↓

извещают руководство об аварии

↓

ожидают прибытия аварийной бригады и Комиссии по контролю за соблюдением правил биологической безопасности

---

[1] На практике специалисту морально будет сделать это крайне тяжело, поскольку погибнет рабочая культура, особенно если её идентификации ожидает пациент, или когда речь идёт об экспериментальной культуре, на получение которой ушло много сил и времени. В этой ситуации может возникнуть соблазн её сохранить или «закрыть глаза» на произошедшую аварию, но делать этого категорически не стоит.

Следует отметить, что на практике перед снятием костюма некоторые специалисты обрабатывают рукава и переднюю часть защитного костюма раствором дезинфектанта.

Прибывшая на место Комиссия принимает решение о дальнейших мероприятиях[1]. В данном случае она может принять решение о возвращении сотрудников к работе на других рабочих местах с обработкой БМБ после окончания работы.

В случае, когда авария произошла вне БМБ, выполняются следующие действия (**важно:** *не паниковать*):

Сотрудник, у которого произошла авария	***Напарник (любой сотрудник, находящийся в помещении)***
сообщает напарнику (находящимся в помещении) об аварии – сигнал «авария»	принимает сигнал «авария»
↓	↓
	включает аварийную сигнализацию
↓	↓
все сотрудники, закрыв передние отверстия своих боксов и задержав дыхание, выходят в предбокс	
↓	

[1] Эта комиссия, формируемая приказом руководителя организации, совместно с заведующим структурным подразделением оценивает ситуацию, определяет объем мероприятий по локализации и ликвидации последствий аварии и контролируют действия сотрудников, участвующих в ликвидации аварии. Участники аварии (пострадавшие) и заведующий структурным подразделением представляют письменные объяснения руководителю организации, в которых отражают время и место аварии, характер выполняемой работы, обстоятельства аварии, вид микроорганизма, группу патогенности, вирулентность и чувствительность к антибактериальным препаратам, были ли нарушения требований биологической безопасности при работе, принятые меры. В свою очередь председатель комиссии в течение 2 часов подаёт докладную записку на имя руководителя организации, в которой подробно излагает дату и время аварии, фамилии, должности участников (пострадавших), характер аварии, даёт детальную характеристику возбудителя, сведения о вакцинации участников (пострадавших), излагает ход эксперимента, предлагает объём мероприятий по ликвидации последствий, делает запись в журнале учёта аварий и происшествий. На основании этого руководитель организации определяет дальнейшие действия по ликвидации последствий аварии в соответствии с имеющимся планом мероприятий по ликвидации аварий. После ликвидации аварии председатель комиссии составляет заключение в журнале регистрации аварий (оконченный журнал хранится в подразделении в течение 3 лет).

включают ультрафиолетовую лампу помещения

↓

обрабатывают верхнюю пару перчаток раствором дезинфектанта

↓

снимают и помещают в контейнер с раствором дезинфектанта

↓

обрабатывает открытые участки тела ватным тампоном, смоченным 70%-м раствором этилового спирта

↓

обрабатывает участки защитного костюма, на которого мог попасть ПБА, раствором дезинфектанта

↓

аккуратно снимают защитный костюм и помещают его в контейнер с раствором дезинфектанта

↓

снимают нижнюю пару перчаток и помещают их в контейнер с раствором дезинфектанта

↓

обрабатывают руки 70%-м раствором этилового спирта и моют руки с мылом[1]

↓

извещают руководство об аварии

↓

в санпропускнике снимают рабочую одежду, принимают гигиенический душ и надевают чистую одежду

↓

ожидают прибытия аварийной бригады и Комиссии по контролю за соблюдением правил биологической безопасности

---

[1] В том случае, если слизистые глаз, носа и рта не были защищены, то их ополаскивают проточной водой, нос и горло ополаскивают 70%-ным раствором этилового спирта, а в глаза закапывают 2%-ный раствор борной кислоты (0,5 г борной кислоты на 25 мл воды). При работе с бактериями принимают антибиотик, активный в отношении данных бактерий, при работе с вирусами – закапывают в глаза и нос интерферон или индуктор интерферона, а при работе с ботулиническим токсином – обрабатывают глаза и рот 10 МЕ/мл антитоксической сыворотки.

Прибывшая на место Комиссия принимает решение о дальнейших мероприятиях. В данном случае она может принять решение о направлении сотрудников в медицинский изолятор. Дальнейший допуск к работе осуществляется только после проверки знаний биологической безопасности.

Аварийная бригада, прибывшая на место аварии, проводит дезинфекционные мероприятия в костюме I типа (о нём поговорим далее), используя свежеприготовленный раствор дезинфектанта, активного в отношении ПБА, с которым проводилась работа: для неспорообразующих микроорганизмов, к которым относится *Y. pestis*, используют 3%-ный раствор хлорамина, а для спорообразующих микроорганизмов – 6%-ный раствор перекиси водорода с 0,5%-ным ПАВ (т. е. моющим средством).

В случае, когда авария произошла в БМБ, через два часа после аварии выключают ультрафиолетовую лампу БМБ и аккуратно открывают переднее отверстие. В рабочей камере бокса размещают ёмкости с дезинфицирующим раствором и пакет (пакеты) для автоклавирования. Рядом размещают контейнер, в котором пакет для автоклавирования будет транспортироваться на дезинфекцию. Если сотрудник не завершил работу, то место розлива покрывают салфетками, смоченными раствором дезинфектанта, и ждут 10 минут. Салфетки, осколки лабораторной посуды, а также посуду с посевами и инструменты (то есть всё, что лежит внутри бокса) собирают корнцангом (реже – пинцетом) и помещают в пакет для автоклавирования. Некоторые специалисты полагают, что визуально не контаминированные (не залитые) инструменты можно протереть салфеткой, смоченной раствором дезинфектанта, и не отправлять на автоклавирование, однако целесообразнее исходить из того, что образовавшийся во время аварии аэрозоль мог осесть на все предметы, находящиеся в рабочей камере бокса. Далее, с помощью салфетки, смоченной раствором дезинфектанта, обрабатывают все поверхности внутренней камеры бокса, включая пространство под рабочей поверхностью (столешницей), которая также обрабатывается и помещается в пакет для автоклавирования. Все пакеты помещают в контейнер и транспортируют в автоклавную на дезинфекцию. Включают ультрафиолетовые лампы БМБ и помещения.

В случае, когда авария произошла вне БМБ, через два часа после аварии выключают ультрафиолетовую лампу помещения и, начиная с порога (входной двери) разбрызгивают раствор дезинфектанта. Для этого используют устройство для дезинфекции методом орошения (гидропульт и другие) или аэрозольным методом. Орошение проводят перед собой, орошая воздух и все предметы, включая потолок, стены, пол и оборудование, медленно продвигаясь вглубь помещения. Некоторые специалисты считают, что орошение необходимо производить от санпропускника, к которому в рабочей одежде (возможно, контаминированной ПБА) шли сотрудники. На осколки разбитой посуды, а также посуду с посевами и инструменты (то есть всё, что находится в месте аварии) накладывают салфетки, смоченные раствором дезинфектанта. Спустя два часа с помощью корнцанга их помещают в пакет для автоклавирования, который погружают в контейнер и транспортируют в автоклавную на дезинфекцию. Место аварии дополнительно протирают салфеткой, смоченной раствором дезинфектанта, и включают ультрафиолетовую лампу помещения.

Через два часа после ликвидации аварии сотрудник в костюме IV типа выключает ультрафиолетовые лампы, отмывает БМБ от остатков раствора дезинфектанта и проводит уборку помещения.

Авария с повреждением целостности защитного костюма в условиях работы в лаборатории маловероятна и чаще возможна при работе в больнице. В этой ситуации следует немедленно положить на место повреждения салфетку, смоченную раствором дезинфектанта, оповестить напарника (находящихся в помещении) и немедленно выйти в предбокс. Там по уже описанным схемам следует снять защитный костюм и оповестить руководство. Включение аварийной сигнализации, как и завершение работы другими сотрудниками видится нецелесообразным, поскольку риск инфицирования для них, в отличие от предыдущих видов аварий, отсутствует.

Следует отметить, что повреждение верхней пары перчаток (одной из них), чаще всего случающееся во время работы в БМБ, **не считается аварией**, поскольку при этом нижняя пара перчаток остаётся неповреждённой. В этой ситуации следует оповестить напарника (находящихся в помещении) и заменить повреждённую

пару перчаток на новую. При этом целесообразно запас перчаток хранить непосредственно в помещении, чтобы не выходить в предбокс. Кроме того, когда работа осуществляется в защитном костюме, у которого перчатки не являются частью рукава, следует закреплять клейкой лентой именно нижнюю пару перчаток. Тогда в случае повреждения верхней пары перчаток их легко будет снять и заменить на новые.

Особым видом аварии с повреждением целостности защитного костюма является повреждение целостности пневмокостюма, в который воздух подаётся под небольшим давлением. Чаще всего в таких костюмах работают с крупными животными, например, обезьянами, которые могут повредить его когтями. При повреждении такого костюма подаваемый внутрь него воздух начнёт выходить через место повреждения, что исключит попадание контаминированного воздуха внутрь. В этой ситуации следует немедленно устранить место повреждения подручными средствами. Для этого отлично подойдёт кусок клейкой ленты, но можно использовать салфетку, смоченную раствором дезинфектанта, корнцанг или закрутить ткань костюма рукой. Неважно, чем вы устраните повреждение, главное его устранить. Если позволяет материал костюма, целесообразно заранее наклеить на него небольшой кусок клейкой ленты, чтобы быть готовым к аварии (и пусть она никогда не понадобится).

Авария с повреждением кожных покровов является, пожалуй, самым опасным видом аварии, поскольку имеется высокий риск заражения. Кроме того, она чаще всего комбинируется с другим видом аварии. Например, в руках сотрудника взрывается колба с культурой, и осколок прорезает перчатку, задевая кожу на ладони. Это, во-первых, авария с повреждением кожных покровов, а, во-вторых, как несложно догадаться, авария с разбрызгиванием. Первым действием в такой ситуации является обработка места повреждения раствором дезинфектанта. Если вы работаете в БМБ, то целесообразно опустить руку в контейнер с раствором дезинфектанта (тот, что стоит в «чистой» зоне БМБ). Также можно опустить руку в перчатку, заполненную раствором дезинфектанта. Если повреждена нога, то её можно опустить в ёмкость (ведро) с раствором дезинфектанта, которое хранится в помещении. Одновременно с

этим следует оповестить напарника (находящихся в помещении), который включает аварийную сигнализацию. Последующие действия аналогичны тем, что осуществляются при аварии с разбрызгиванием. На место ранения накладывают тампон с 70%-ным раствором этилового спирта. В случае работы с вирусами рану обрабатывают 5%-ным спиртовым раствором йода, а в случае работы со спорообразующими бактериями – промывают дистиллированной водой. Далее сообщают руководству и ожидают прибытия аварийной бригады и Комиссии по контролю за соблюдением правил биологической безопасности, которая принимает решение о дальнейших мероприятиях, которые зависят от таких факторов, как вид ПБА, вид повреждения и вид сопутствующей аварии.

28 КОСТЮМ

Первый комплект защитного костюма был предложен Ша́рлем де Л'Ормом[1] в 1619 году и изготавливался из марокканской козьей кожи по типу военной формы того времени. В его состав входили длинное пальто, шляпа, перчатки и сапоги, пропитанные воском и ароматными настоями, чтобы отпугивать болезнь[2]. Последним элементом костюма была характерная маска, известная с XIV века, с защищающими глаза стёклами и клювом, в которой врач должен был напоминать древнеегипетского бога врачевания и мудрости То́та. Клюв маски заполнялся ватой, пропитанной настоями, засушенными цветами и травами, уксусом, и имел два небольших отверстия для дыхания, став прообразом современных респираторов и противогазов. Популярность маски была столь велика, что она стала неотъемлемой частью Венецианского карнавала, а костюм

[1] Charles de L'Orme; французский врач, личный лекарь французского короля Людовика XIII.

[2] Как уже говорилось, в то время считалось, что болезни возникают из-за действия зловонных миазмов, следовательно, для их «отпугивания» необходимо использовать ароматные масла (духи). Отчасти логика в этом имелась, поскольку многие растения, из которых получали ароматные настои, обладают антисептическим действием.

стал причиной появления чумного доктора (ит. il Medico della Peste) в комедии dell'arte[1].

В настоящее время все работы с возбудителями инфекционных болезней осуществляются в *противочумном костюме* или его аналогах, то есть *средствах индивидуальной защиты* (СИЗ), которые мы уже видели на изображениях в Главе 26. Первый прототип костюма, оснащённый средством фильтрации, был спроектирован в 1878 году Виктором Васильевичем Пашу́тиным[2]. В зависимости от вида проводимых работ противочумный костюм подразделяется на типы (Табл. 28.1) и в максимальной комплектации (I тип) включает рабочую одежду (штаны и куртку с длинными рукавами, то есть так называемую «пижаму», которую мы уже видели на Рис. 26.3, а также носки, в которые заправляются брючины штанов!)[3], шапочку (малая косынка), большую косынку, перчатки, защит-



Костюм чумного доктора

[1] Комедия масок, вид народного итальянского театра.

[2] 1845–1901; российский врач, патофизиолог. Автор работ по общей и экспериментальной патологии, патологической физиологии. В 1890–1901 годах начальник Императорской военно-медицинской академии (ныне – Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова).

[3] Следует помнить, что наличие украшений недопустимо!

ную обувь (сапоги, водонепроницаемые бахилы)[1], полотенце, защитные очки, респиратор и противочумный халат. При работе с животными, а также при патологоанатомическом вскрытии дополнительно надевают высокие сапоги, прорезиненный фартук и нарукавники.

Табл. 28.1. Комплектация противочумного костюма

Элемент костюма	Тип костюма			
	I	II	III	IV
Противочумный халат[1]	+	+	+	+
Рабочая одежда	+	+	+	+
Носки	+	+	+	+
Перчатки	+	+	+	+
Косынка[2]	+	+	+	+
Защитная обувь	+	+	+	
Полотенце[3]	+	+	+	
Респиратор[4]	+	+		
Очки[4]	+			

Примечание:
[1] для костюма IV типа допускается использование хирургического халата;
[2] для костюма IV типа используется малая косынка или шапочка, для остальных типов – большая косынка или шлем.
[3] не входит в состав костюма во время работы в больнице.
[4] могут заменяться на полнолицевую маску, в состав которой входит система фильтрации (респиратор).

Из представленных комплектаций видно, что костюм I типа обеспечивает защиту кожных покровов рук, поверхности тела, лица, органов дыхания и зрения. Костюм II типа – защиту кожных покровов рук, поверхности тела, лица и органов дыхания (без органов зрения). Костюм III и IV типов – защиту кожных покровов рук и поверхности тела (без лица, органов дыхания и зрения), причём костюм IV типа является облегчённой версией костюма III типа. В настоящее время вместо противочумного костюма чаще всего используются его аналоги, подбираемые в соответствии с обозначенными характеристиками, которые могут различаться по комплек-

[1] Традиционной обувью противочумной системы являются чувяки (от адыг. цуакъэ – «обувь»), представляющие собой мягкие кожаные тапочки без каблуков с закрытой пяткой, из которых удобно переобуться в сапоги в предбоксе.

тации, но обычно отличаются от классического противочумного костюма только наличием комбинезона, слитого со штанами и капюшоном (Рис. 28.1). В максимально изолированных лабораториях уровня BSL-4 используют пневмокостюм.

Тип используемого костюма зависит от вида проводимых мероприятий и работ. В случае чумного микроба используют костюм I типа, за исключением иммунизации животных, убитыми культурами, при которой используют костюм IV типа, дополненный респиратором, и транспортировки материала в автоклавную, во время которой используют костюм III типа, дополненный фартуком. Во время лечения больных бубонной формой, получающих антибиотикотерапию, допускается использование костюма III типа.

Порядок надевания костюма строго не регламентирован, но рекомендуется в первую очередь надевать косынку, изготовленную из хлопчатобумажной ткани, чаще бязи. Как уже говорилось, косынка бывает малая (90 х 90 х 125 см) и большая (120 х 120 х 150 см), при этом последняя возможна в двух модификациях: 1) отрез ткани, который складывается по диагонали, накладывается на голову таким образом, чтобы основание получившегося треугольника закрывало лоб, углы (концы) подворачиваются под подбородком и



Рис. 28.1. *Противочумный костюм I типа (слева) и его аналог (справа). Сравните их с теми, в которые одеты специалисты на Рис. 26.2 и 26.4*



Рис. 28.2. *Пример надевания большой косынки*

завязываются на задней стороне шеи (Рис. 28.2, *левый*); 2) отрез ткани, имеющий посередине квадратный или прямоугольный вырез, к углам которого пришиты завязки (*ленты*), благодаря которым косынка закрепляется на голове (Рис. 28.2, правый).

Выбор модификации зависит от вида используемого *средства индивидуальной защиты органа дыхания* (СИЗОД). Если планируется работа в полнолицевой маске, то удобнее использовать косынку без выреза (модификация 1), поскольку обтюратор (т. е. силиконовая резинка по контуру маски) будет плотно прилегать к ткани. *Для* работы в очках и респираторе удобнее использовать косынку с вырезом (модификация 2), поскольку *дужки* очков и респиратор можно надеть под косынку и края её выреза будут создавать дополнительную фиксацию респиратора. Это особенно удобно при использовании респираторов типа «*Л*епесток»[1], однако следует помнить, что неправильное их надевание грозит подсосом контаминированного воздуха в местах неплотного прилегания. Именно по этой причине в ряде стран они запрещены к использованию. В настоящее время чаще всего используют респираторы класса защиты FFP3 (максимальный), хотя ещё в 80-х годах прошлого столетия

[1] Фильтры, производящиеся в СССР с 1957 года, на основе «ткани Петрянова». Простота изготовления, доступность материалов и дешевизна производства делала их чрезвычайно популярными в СССР.



Рис. 28.3. *Шлем (завязки обеспечивают лучшую фиксацию)*

пользовались ватно-марлевыми повязками[1]. В качестве альтернативы косынкам используют шлем (Рис. 28.3), полностью закрывающий лоб, щёки, шею и подбородок. Он также удобен при использовании полнолицевой маски.

Противочумный халат изготавливается из водоотталкивающей ткани, например, хлопчатобумажной с пропиткой. Традиционно использовали ткань белого цвета, чтобы сразу видеть загрязнения, но сейчас существуют модели различных цветов. Внешне противочумный халат похож на хирургический, но с длинными краями, при запахе глубоко заходящими друг за друга, и длинными тесёмками (завязками) на поясе и шее. Кроме того, он несколько длиннее хирургического (длина доходит до нижней трети голени), однако некоторые специалисты его немного укорачивают, чтобы было удобно ходить. На рукавах имеются завязки или манжеты на резинке. Надевают его перед зеркалом или под контролем напарника, проверяя, чтобы края косынки не торчали из-под халата. Тесёмки завязываются у ворота и на поясе спереди.

Далее берут две пары перчаток и проверяют их на целостность (герметичность). Для этого достаточно взять перчатку за манжету двумя руками и несколько раз перекинуть (пальцы) через получившуюся ось – если конструкция надулась, перчатка целая. Первую пару надевают под рукава халата, а вторую – поверх рукавов. Для удобства перчатки фиксируют. За пояс халата закладывают

[1] В настоящее время запрещены к применению. Изготавливались из отреза марли длиной 125 см и шириной 50 см. В средней части марли укладывался слой ваты длиной около 25 см и шириной 17 см (вес ваты 20 г, толщина слоя 1,5–2 см). Края марли заворачивались на слой ваты, а длинные концы разрезались вдоль, немного не доходя до слоя ваты. Под наружный край марли дополнительно закладывали три ватных тампона.

полотенце (правшам удобнее располагать его слева). При работе с животными, а также при патологоанатомическом вскрытии дополнительно надевают высокие сапоги, прорезиненный фартук и нарукавники. Сапоги целесообразнее надевать в последнюю очередь, но если работа предполагается в иной обуви, например, в водонепроницаемых бахилах (Рис. 28.4), то их лучше надевать в самом начале. Так или иначе, порядок надевания зависит от удобства сотрудника, главное, чтобы костюм обеспечивал надежную защиту в соответствии с типом костюма.

В отличие от надевания *снятие* противочумного костюма строго регламентировано. В основу положен принцип: от потенциально наиболее загрязнённого к наименее загрязнённому. Снимают элементы костюма медленно, снятый элемент погружают в бак с раствором дезинфектанта, руки моют раствором дезинфектанта.

Если работа осуществлялась в виварии или помещении для патологоанатомического вскрытия (секционной), то перед выходом из них фартук обрабатывают раствором дезинфектанта движениями сверху вниз. Ноги в сапогах поочерёдно помещают в таз с раствором дезинфектанта, также сверху вниз обтирая салфеткой, смоченной им. На практике для удобства могут использовать валик, на который наматывают салфетку. Нога, не помещённая в таз, в этот момент находится на коврике, смоченном раствором дезинфектанта.

Далее выходят в предбокс, где моют руки в растворе дезинфектанта в течение 1–2 минут, снимают полотенце, нарукавники и первую пару перчаток. Снова моют руки в растворе дезинфектанта.



Рис. 28.4. *Пример надетых водонепроницаемых бахил*

Снимают очки

(если работа проводилась не в полнолицевой маске)

помещают в бак с раствором дезинфектанта ↓ *моют руки раствором дезинфектанта*

Снимают противочумный халат:

– развязывают тесёмки на рукавах (именно поэтому целесообразно надевать первую пару перчаток под халат);
– развязывают тесёмки на шее и поясе;
– скрестив руки крестообразно на груди, берут халат в районе плеч (т. е. правой рукой у левого плеча, а левой – у правого);
– тянут, в результате чего халат снимется свёрнутым внутрь;
– сворачивают халат до подола («в трубочку»)

помещают в бак с раствором дезинфектанта ↓ *моют руки раствором дезинфектанта*

Снимают полнолицевую маску

(если работа проводилась в ней)

помещают в бак с раствором дезинфектанта ↓ *моют руки раствором дезинфектанта*

Снимают косынку:

– развязывают узел (модификация 1) или завязки (модификация 2);
– собирают все концы на затылке, сворачивая грязной стороной внутрь (модификации 1 и 2) или выворачивают наизнанку (шлем)

помещают в бак с раствором дезинфектанта ↓ *моют руки раствором дезинфектанта*

Снимают респиратор

помещают в бак с раствором дезинфектанта ↓ *моют руки раствором дезинфектанта*

Снимают защитную обувь

помещают в бак с раствором дезинфектанта ↓ *моют руки раствором дезинфектанта*

Снимают последнюю пару перчаток

Снятые перчатки помещают в бак с раствором дезинфектанта (при необходимости проверяют на наличие повреждений), а руки обрабатывают 70%-ным раствором этилового спирта и моют с мылом.

Существует распространённое мнение, согласно которому респиратор снимают перед халатом, что объясняется принципом, с которого мы начали, – потенциально респиратор грязнее халата и уж тем более косынки. Однако, поскольку он обеспечивает защиту

органов дыхания, целесообразно снимать его как можно позже (можно даже после снятия защитной обуви).

Порядок надевания и снятия аналога противочумного костюма зависит от его конструкции, но в целом сводится к принципам, описанным выше. К этому можно добавить только то, что в случае полного комбинезона его следует сворачивать наружной стороной внутрь, начиная с капюшона и постепенно спускаясь вниз до штанин.

Обеззараживание костюмов осуществляют либо погружением (3%-ный раствор хлорамина или 6%-ный раствор перекиси водорода с 0,5%-ным ПАВ) либо автоклавированием.

29 МАТЕРИАЛ

Единственным условием, при котором, согласно Всемирной организации здравоохранения, случай заражения чумой можно считать подтверждённым, является выделение *Y. pestis* из клинического материала.

У больных таким материалом является содержимое бубона (везикулы, язвы), отделяемое из зева, образцы мокроты, крови, мочи и испражнений, при подозрении на менингеальную форму – образцы спинномозговой жидкости. Забор материала осуществляется сразу при поступлении в лечебное учреждение или в течение двух часов после возникновения подозрения, но до начала специфического лечения (антибиотикотерапии). Спустя три дня после окончания лечения осуществляют ежедневный забор материала до получения трёх отрицательных результатов (двух отрицательных результатов при исследовании пунктата из бубона).

У контактных лиц исследуют только отделяемое из ротовой полости и зева. Забор материала осуществляют до назначения про-

филактического лечения (антибиотикотерапии) и после его завершения.

У трупов исследуют образцы бубонов, кусочки органов (печени, селезёнки, лёгкого), кровь из сердца, фрагменты костей, содержащие костный мозг, а также спинномозговую жидкость, содержимое лёгких, мочевого пузыря, кишечника, что зависит от формы заболевания.

Правильность взятия материала влияет на качество лабораторного исследования и позволяет избежать ложноотрицательных результатов[1]. Именно поэтому при подозрении на чуму материал отбирается медицинским персоналом под контролем специалиста по особо опасным инфекциям. Кратко рассмотрим способы взятия материала.

Пунктат из бубона. Бубон и окружающие его ткани подвергают обработке 70%-ным раствором этилового спирта, затем 5%-ным раствором йода и снова спиртом, чтобы удалить излишки йода и не допустить ожога тканей. Возможно вместо раствора йода использовать повидон-йод. Осторожно вводят иглу таким образом, чтобы её острие достигло центра бубона. Если бубон находится на стадии везикулы (пустулы), то иглу вводят у края образования и медленно продвигают в центр. Забирают не менее 5 мл содержимого и аккуратно выводят иглу. Далее через иглу в шприц набирают 0,5 мл стерильного питательного бульона (или физиологического раствора). Это делается потому, что, как правило, экссудат в бубоне расположен между плотными воспалёнными тканями и забрать его в достаточном количестве едва ли возможно. Чаще всего он заполняет только просвет иглы, поэтому с помощью питательного бульона его «выгоняют» в стерильную пробирку. Для удобства можно набрать бульон в шприц до процедуры, но тогда следует либо набирать его без иглы, либо сменить её на стерильную. В случае невозможности извлечения содержимого бубона, в него вводят 0,3–0,5 мл стерильного физиологического раствора и отбирают его. Последние капли материала (с иглы) наносят на два предметных стекла, которые после подсыхания фиксируют (подробнее об этом

[1] Вполне вероятно, что причиной сложности лабораторной диагностики из случая, приведённого в Главе 18, были ошибки, допущенные при взятии материала.

в следующей главе) или нефиксированные упаковывают в герметичную тару с надписью «нефиксированный мазок».

Если бубон вскрылся (язва, карбункул), то, при необходимости, стерильной салфеткой удаляются некротические массы и гной, а салфеткой, смоченной 5%-ным раствором йода (повидон-йода), аккуратно обрабатывается кожа вокруг поражённого места. Стерильным тампоном аккуратно собирается отделяемое промакивающими движениями от центра к периферии (некоторые специалисты рекомендуют собирать отделяемое у центра и на периферии двумя разными салфетками), после чего тампон помещается в стерильную транспортную среду, например, среду Кери – Блэра (прописи сред приведены в Дополнительных материалах).

Слизистое отделяемое ротовой полости и зева. Забирают натощак или через 3–4 часа после еды зондом (ту́пфером). Для этого язык прижимают стерильной деревянной палочкой (шпателем) и собирают материал с задней поверхности глотки, миндалин и, при наличии, участков воспаления или изъявления слизистой. Зонд помещают в стерильную транспортную среду. При взятии пробы важно не касаться зондом слизистых щёк, языка, дёсен, губ и язычка.

Мокрота. Отбирается в специальные стерильные широкогорлые контейнеры (банки) с завинчивающимися крышками.

Кровь. Кожу над пунктируемой веной тщательно протирают 70%-ным раствором этилового спирта и наносят круговыми движениями раствор йода (повидон-йода), начиная от центра. После высыхания йода накладывают жгут и отбирают 10–20 мл крови, из которой 5 мл помещается (засеивается) в 50 мл бульона, а остальное распределяется по пробиркам: для посева на плотные питательные среды (если нет возможности посеять у постели больного), для постановки биологической пробы, для молекулярно-генетического анализа (пробирка должна дополнительно содержать антикоагу-

лянт[1]), для получения сыворотки (постановки иммуносерологических реакций).

Кусочки органов от трупов (аутопсийный материал). Обеззараживают металлические части инструментов (скальпелей, ножниц) – смачивают 95%-ным раствором спирта и поджигают, после чего следует немного подождать, чтобы металл остыл. Далее аккуратно отделяют небольшие фрагменты и помещают их в контейнеры с транспортной средой. Для взятия *крови из сердца* животного последнее фиксируется браншами пинцета. Раскалённым скальпелем прижигают переднюю стенку его до появления белого пятна, после чего проникают в полость сердца иголкой шприца и отбирают кровь. *Мочу, желчь и иные биологические жидкости* берут аналогичным образом. С другой стороны, если животное давно пало (т. е. умерло), и кровь нужна только для посева, то ножницами отрезают его верхушку и делают отпечаток на поверхности агара. Для взятия *костного мозга* пинцетом и ножницами освобождают от мышц и сухожилий среднюю часть бедренной кости. Под освобождённый участок подкладывают небольшую стерильную салфетку, смоченную раствором дезинфектанта, и перекусывают кость ножницами, прикрывая крышкой от чашки во избежание разбрызгивания материала. У крупных животных кость перерезают пилкой. Отрезок кости с помощью пинцета поднимают вверх и из костно-мозгового канала петлёй забирают материал для посева.

Для исследования на наличие антител и антигенов (Глава 33) пригодны и высушенные образцы крови и сыворотки, приготовленные путём пропитывания фильтровальной бумаги, предварительно обработанной 0,1%-ным раствором мертиолята натрия. Высушенные образцы хранятся в пробирках в течение 3 недель при комнатной температуре или до 3 месяцев при 4°С. Перед исследованием в пробирку с бумажкой добавляют 1 мл забуференного физиологического раствора и выдерживают 40 минут (полученный раствор примерно соответствует разведению сыворотки 1:10).

В случае грызунов вскрывают их грудную клетку, сохраняя диафрагму, но удаляя лёгкие. Далее рассекают крупные сосуды и серд-

[1] Как правило, используют 4%-ный раствор цитрата натрия в отношении 1:10 к объёму крови или 6%-ный раствор этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) в отношении 1:20 к объёму крови.

це, после чего в полость вводят пропитанную мертиолятом бумажку, в которую впитается примерно 0,2 мл крови.

Похожим образом берут смывы из грудной полости, для чего после рассечения крупных сосудов и сердца вливают в грудную полость 0,5–1 мл физиологического раствора с мертиолятом натрия в разведении 1:4000. Аккуратно перемешивают и переносят в пробирку. в которую добавляют тот же раствор, но в разведении 1:8000.

В палате с больными лёгочной формой чумы берут пробы воздуха и смывы с поверхностей.

Все ёмкости с материалом маркируются и обрабатываются снаружи раствором дезинфектанта. Далее они упаковываются по принципу *тройной упаковки*, который подразумевает наличие трёх защитных слоёв:

1 слой – первичная ёмкость. Водонепроницаемая и герметичная, именно в ней хранится образец (материал);

2 слой – вторичная тара. Также водонепроницаемая и герметичная, содержит достаточно абсорбирующего материала в случае повреждения (протечки) первичной ёмкости. В одну вторичную тару допустимо помещать несколько первичных ёмкостей (например, несколько проб от одного пациента). Сюда же кладут одно из направлений (второе передаётся с лицом, осуществляющим доставку пробы);

3 слой – наружная тара, в которую помещают вторичную тару с достаточным количеством амортизирующего материала, обеспечивающего его сохранность. Минимальные размеры этой тары не могут быть меньше, чем 10 х 10см.

Упакованный материал транспортируется в лабораторию в холодильнике при температуре не выше минус 16°С, а если это невозможно, то он должен быть доставлен в течение 5–6 часов после взятия материала!

При проведении эпизоотологического обследования природных очагов чумы проводят лабораторное обследование зоолого-энтомологического материала и проб окружающей среды. Обследованию подлежат носители (грызуны, зайцеобразные и реже мел-



Рис. 29.1. *Длиннохвостая ласка (Neogale frenata), отловленная в металлическую клетку в очаге (1975)*

кие хищники) и переносчики (блохи и иные эктопаразиты), отловленные на территории очага. Живых животных транспортируют в металлических клетках или ящиках с сетчатыми крышками (Рис. 29.1). Если экспериментальных исследований живых носителей не предполагается, то их умерщвляют в капкане корнцангом или иным гуманным способом. Во избежание потерь эктопаразитов тушки животных (в том числе обнаруженные мёртвыми) транспортируют в бязевых мешках (очёс осуществляют на территории временной лабораторной базы в очаге или в боксе для работы с



Рис. 29.2. *Очёс суслика, отловленного в очаге, в условиях временной (полевой) лаборатории. Суслик находится под действием эфира. Внимательный читатель, вероятно, испытывает негодование из-за отсутствия средств индивидуальной защиты, но так работали ещё в конце прошлого века. Обратите внимание, что очёс осуществляют над эмалированной посудой, из которой блохи не могут выпрыгнуть*



Рис. 29.3. *Очёс крыс, отловленных в одном из поселений провинции Тайнинь (Вьетнам). Обратите внимание на «уличные» условия работы – так работали чумологи в странах Юго-Восточной Азии ещё 20 лет назад (сейчас ситуация изменилась в лучшую сторону, а чумной микроб не выделяется во Вьетнаме с 2005 года). Справедливости ради отметим, что при аккуратной работе риск аэрогенного заражения во время очёса невелик, а чума, вызванная антибиотикочувствительными штаммами, легко поддаётся лечению. Фотография любезно предоставлена Виктором Васильевичем Сунцовым (слева).*

инфицированными животными; Рис. 29.2 и 29.3). Во время активных эпизоотий иногда обследуют диких грызунов (как живых, так и мёртвых) на фарингеальное бактерионосительство, для чего зондом берут материал с глотки (мазок). Эктопаразитов, собранных в очаге, доставляют в пробирках, закрытых ватно-марлевыми пробками, живыми или в консервирующем растворе[1]. Также собирают погадки птиц, остатки пищи из гнёзд, почву нор грызунов и воду, транс-

[1] Раствор хлорида натрия с генцианвиолетом в соотношении 1:200000–1:300000.



▲ ***Рис. 29.4.*** *Патологоанатомическое исследование луговой собачки (Cynomys sp.), являющейся членом колонии, вымершей в Чаббс-парке (штат Колорадо, США) во время эпизоотии чумы (1959)*

▼ ***Рис. 29.5.*** *Патологоанатомическое исследование сурков в условиях полевой лаборатории в Алайском высокогорном природном очаге (Киргизия)*



портировка которых осуществляется по принципу тройной упаковки.

В случае необходимости фрагменты органов животных извлекаются во временной лаборатории в очаге (порядок патологоанатомического вскрытия животных будет рассмотрен далее). Исследуются печень и селезёнка, а при выявлении характерных для чумы патологоанатомических изменений внутренних органов дополнительно исследуют лёгкие и лимфатические узлы (Рис. 29.4 и 29.5). От животных, обнаруженных мёртвыми, также исследуют кровь из сердца и околосердечного пучка сосудов, а также костный мозг (из бедренной кости) и крайне редко головной мозг. Транспортировка проб осуществляется по принципу тройной упаковки. В случае длительной транспортировки используют консервирующие жидкости (например, жидкость Брокэ).

30 КУЛЬТУРА

Чумной микроб является *факультативным анаэробом*[1] и относится к природным *ауксотрофам*[2], поскольку помимо источника энергии нуждается в аминокислотах, что является следствием его редкого обитания вне носителя. Большинство штаммов основного подви-

[1] Растут и развиваются как в присутствии, так и в отсутствии кислорода за счёт способности переключать свой энергетический метаболизм с аэробного дыхания на брожение или анаэробное дыхание.

[2] Не способны синтезировать органические соединения, необходимые для роста, что отличает их от *Y. pseudotuberculosis*, которая относится к прототрофам. Имеются сведения, что в популяциях чумного микроба иногда встречаются полностью прототрофные клоны (равно как и в популяциях *Y. pseudotuberculosis*, хотя и крайне редко, встречаются ауксотрофы). Однако потребности отличаются. Так, например, при повышенной температуре штаммы *Y. pestis* обязательно проявляют зависимость от изолейцина, тогда как штаммы *Y. pseudotuberculosis* нет. Вместе с тем феномен прототрофности штаммов *Y. pestis* подвергается сомнению рядом специалистов, считающих его следствием ошибочной идентификации псевдотуберкулёзных штаммов в качестве чумных.

да нуждается в метионине, фенилаланине и аргинине, а также других аминокислотах, характерных для штаммов различных очагов (Табл. 30.1). Потребность в аминокислотах у штаммов неосновного подвида также индивидуальна (Табл. 30.2).

Причиной этого являются мутации в генах. Так, например, зависимость от метионина обусловлена мутацией в гене *metB*. У штаммов основного подвида в позиции 988 гена имеется делеция единичного нуклеотида (−G), а у гиссарских штаммов в позиции 989 – инсерция (+G). У кавказских штаммов мутации в генах *argA*, *apoG*, *apoF*, *thiH* и *thiG* обуславливают потребность в аргинине, фенилаланине, тирозине и тиамине. По этой причине для работ с культурой чумного микроба используют жидкие и твёрдые питательные среды, в которые добавляют различные аминокислоты[1], однако на практике чаще используют среды, изначально богатые различными питательными веществами.

В качестве стимуляторов роста также иногда добавляют сульфит натрия в количестве 1 мл 2,5%-ного раствора на 100 мл среды, гемолизированную кровь в концентрации 0,05–1,00%.

Стандартной средой согласно рекомендации Всемирной организации здравоохранения[2] является кровяной агар, приготовленный из овечьей крови (SBA, от англ. **s**heep **b**lood **a**gar). В качестве альтернативы могут использоваться агар с сердечно-мозговым экстрактом (BHI, от англ. **b**rain **h**eart **i**nfusion), питательный агар (nutrient agar) и триптиказо-соевый агар (trypticase soy agar), но чумной микроб на них растёт медленнее. Используют также агары МакКо́нки (MacConkey agar), Хотти́нгера (Hottinger agar) и Марте́на (Martin agar) с сульфитом натрия и генцианвиолетом, либо агары на гидролизатах казеина, рыбной муки и кильки каспийской, мясопептонной воде. Если достоверно известно, что материал не загрязнён посторонней микрофлорой, то допускается генцианвиолет не добавлять. При работе в полевых используют дезоксихолатный агар, поскольку при этом не требуется стерилизация и чумной микроб может быть выделен даже при комнатной температуре.

---

[1] Например, в случае кавказских штаммов тиамин (витамин B1) добавляют в количестве 0,0001 мг на 100 мл среды.

[2] Dennis D. T., Gage K. L., et al. *Plague manual: epidemiology, distribution, surveillance and control*, World Health Organization, WHO/CDS/CSR/EDC/99.2, 1999, 172 p.

Табл. 30.1. Потребность штаммов основного подвида из различных природных очагов в аминокислотах (помимо метионина, фенилаланина и аргинина)

Очаг	**Биовар**	**Дополнительная потребность**
Сырыджазский высокогорный	ANT	лейцин, цистеин
Забайкальский степной		
Верхненарынский высокогорный		цистеин
Алайский высокогорный		
Аксайский высокогорный		лейцин
Центрально-Кавказский высокогорный (Верхне-Кубанский и Кубано-Малкинский районы)	MED	пролин
Тувинский горный (1 – каргинский вариант; 2 – саглинский вариант)		метионин, цистеин (1) метионин (2)
Приараксинский низкогорный		цистеин
Урало-Эмбенский пустынный		
Северо-Приаральский пустынный		
Муюнкумский пустынный		
Таукумский пустынный		
Прибалхашский пустынный		
Закавказский равнинно-предгорный (Бозчельский, Кобыстанский и Мильско-Карабахский мезоочаги)		цистеин, аргинин
Дагестанский равнинно-предгорный		
Закавказский равнинно-предгорный (Джейранчельский мезоочаг)		лейцин
Прикаспийский песчаный		
Волго-Уральский песчаный		
Устюртский пустынный (северная часть)		
Кызылкумский пустынный		
Прикаспийский Северо-западный степной		лейцин, цистеин
Волго-Уральский степной		
Урало-Уильский степной (северная часть)		
Предустюртский пустынный		
Мангистаукский пустынный		

Табл. 30.2. Потребность штаммов неосновного подвида в аминокислотах

Аминокислота	cauc.	uleg.	micr.	alt.	tal.	hiss.
аргинин	+	−	−	+	±	±
валин	−	−		−	+	−
лейцин	±	−	−	+	+	+
метионин	+	−	−	−	+	+
тиамин	+	−	?	−	−	−
тирозин	+*	?	?	?	±	−
треонин	+	±	?	?	+	−
триптофан	−	−		±	−	−
фенилаланин	+	+	−	+	+	+
цистеин	+*	+	−	+	+	+

Примечание:
* – только для штаммов из очагов на территории Армении.
± – часть штаммов ауксотрофны (данные противоречивы).
? – данные отсутствуют.

Первые попытки создания *селективной среды*, то есть специально разработанной для выделения конкретной бактерии путём подавления роста остальных, относятся к 1917 году, когда Дженни Дре́ннан[1] и Оскар Тиг[2] предложили[3] добавлять в среду кристаллический фиолетовый. В настоящее время в качестве селективной среды для йерсиний используют CIN-агар (от англ. **C**efsulodin-**I**rgasan-**N**ovobiocin agar), однако опыты[4] показывают, что из-за сильных ингибирующих свойств через 36 часов инкубации (т. е. выращивания) при температуре 28°C вырастает только 5% бактерий. Используют также гектоеновый агар (HEK, от англ. **hek**toen enteric

[1] Jennie G. Drennan; американский врач, бактериолог.

[2] Oscar Teague; американский врач, бактериолог, иммунолог.

[3] Drennan J. G., Teague O. *A selective medium for the Isolation of B. Pestis from contaminated Plague Lesions and observations on the growth of B. Pestis on Autoclaved Nutrient Agar*. J Med Res. 1917; 36(3):519–532.

[4] Russel P., Nelson M., et al. *Laboratory diagnosis of plague.* Br J Bio Sci. 1997; 5(54): 231–236.

agar) и BIN-агар, разработанный [1] на основе сердечно-мозгового агара.

Для подавления роста посторонней микрофлоры чаще добавляют генцианвиолет в концентрации 1:100000–1:800000, но могут быть использованы теллурит калия в концентрации 1:300000, дезоксихлорат натрия в концентрации 10 мг/*л* и фосфомицин в концентрации 50–100 мкг/мл.

Для дифференциации чумного микроба (т. е. в данном случае – отличия от других) используют дифференциальные среды, при росте на которых разные бактерии окрашиваются в различные цвета. Это удобно, поскольку бактерии различных видов могут образовывать похожие колонии, и при изучении отдельных изолированных колоний на обычных питательных средах есть вероятность принять две одинаковые на вид колонии за относящиеся к одному виду микроорганизмов. В основе принципа работы дифференциальных сред лежит способность микроорганизма ферментировать различные субстраты, о чём подробнее поговорим в следующей главе. Примером такой среды может служить цветная дифференциальная среда, позволяющая отличать колонии чумного микроба от псевдотуберкулёзного по способности последнего разлагать мочевину. Так, в случае *Y. pestis* среда приобретает зеленоватый оттенок, а в случае *Y. pseudotuberculosis* – синий.

Отдельного внимания заслуживают так называемые *хромогенные питательные среды*, состав которых приводит к окрашиванию колоний. Первая такая среда была предложена[2] в 1988 году Ло́уренсом Реста́йно (с коллегами), а чумная среда основанной им фирмы R & F Products содержит хромогенный субстрат X-β-D-глюкопиранозид, реагирующий с β-глюкозидазой чумного микроба с образованием осадка, окрашивающего колонии за счёт индикатора pH в синий цвет (Рис. 30.1). Кроме того, среда содержит сахарозу, L-рамнозу, целлобиозу и лактозу, которые *Y. pestis* не фер-

[1] Ber R., Mamroud E., et al. *Development of an improved selective agar medium for isolation of Yersinia pestis*. Appl Environ Microbiol. 2003; 69(10):5787–5792; DOI: 10.1128/AEM.69.10.5787-5792.2003.

[2] Frampton E.W., Restaino L., et al. *Evaluation of the β-Glucuronidase Substrate 5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl-β-D-Glucuronide (X-GLUC) in a 24-Hour Direct Plating Method for Escherichia coli*. J Food Prot. 1988; 51(5):402–404; DOI: 10.4315/0362-028X-51.5.402.

ментирует, но ферментируют другие бактерии рода *Yersinia*, что приводит к окрашиванию их колоний от зелёного до жёлтого цвета. Другие бактерии либо растут в иной цветовой гамме, либо ингибируются. Забегая несколько вперёд, отметим, что эта среда может давать ложноотрицательный результат в случае штаммов неосновного подвида.



Рис. 30.1. *Культура Y. pestus, выращенная на хромогенной среде фирмы R & F Products (любезно предоставлено производителем)*

В качестве жидких питательных сред используют бульоны Хоттингера, Мартена, с сердечно-мозговым экстрактом, триптиказо-соевый и LB (от англ. **l**ysogeny **b**roth) с добавлением генцианвиолета. Александр Йерсен выращивал культуру чумного микроба в пептонной воде.

Для выделения культуры («золотой стандарт»), материал сеют на жидкие (бульоны), полутвёрдые (0,08–0,7% агара) и твёрдые (1,5–2% агара) питательные среды в зависимости от вида материала. Жидкие и полужидкие разливают в пробирки (последние в виде столбика с ровным или скошенным краем), а твёрдые – в чашки Петри. Посевы проводят в БМБ II класса над лотком, содержащим салфетку, смоченную раствором дезинфектанта. Ёмкости, в которые будут засевать материал, заранее подписывают, а все манипуляции производят сосредоточенно, не торопясь, чтобы избежать аварий. Чаще всего в лабораторию материал доставляется в пробирке (флаконе), поэтому рассмотрим технику посева из неё.

Большим, указательным и средним пальцами левой руки берут пробирку, при этом ладонь размещают под ней (допускается безымянным пальцем и мизинцем придерживать её снизу). Некоторые специалисты предпочитают размещать ладонь сверху, но это неудобно, поскольку закрывает обзор содержимого пробирки и создаёт аварийную ситуацию. В правую руку берут петлю или пипетку (дозатор), используя большой, указательный и средний пальцы. Безымянным пальцем и мизинцем, прижимая к ладони,

захватывают пробку пробирки и над пламенем горелки (спиртовки) аккуратно вынимают её. Затем быстро обжигают горлышко пробирки в пламени горелки. Стерильной петлёй (одноразовой или предварительно обожжённой[1]) берут материал на кончик петли и извлекают её, не касаясь стенок пробирки (либо всасывают в кончик пипетки).

С этого момента рука должна оставаться неподвижной (надёжнее всего зафиксировать её на локте). Петля располагается параллельно салфетке, а пипетка – таким образом, чтобы её кончик находился как можно ближе к салфетке. Далее закрывают пробирку пробкой (левой рукой вдевают на пробку) и отставляют в сторону[2]. Берут ёмкость, в которую будет осуществляться посев материала, открывают её, сеют материал, закрывают и отставляют в сторону. Затем одноразовую петлю или пипетку погружают в контейнер с раствором дезинфектанта (который располагается в «грязной» зоне бокса). В случае пипетки сначала погружается её носик, в полость набирается раствор дезинфектанта, и только после этого она погружается полностью. Если погрузить пипетку сразу, то она будет плавать в растворе незаполненная. В случае многоразовой петли её вносят в пламя горелки, начиная с петледержателя, медленно продвигаясь к кольцу с остатками материала, который подсушивают, после чего её снова вводят в пламя горелки (в этот раз со стороны кольца) и прокалывают докрасна. Если внести петлю сразу, то обугленный материал, не будучи обеззараженным, может либо разлететься на кусочки (авария с разбрызгиванием), либо в виде огарка упасть на столешницу (авария без разбрызгивания).

В качестве ёмкости, куда засевают материал, могут использоваться пробирка или чашка Петри. В случае пробирки удобнее всего её взять вместе с пробиркой с материалом. Тогда можно открыть их одновременно, что значительно сократит время пребыва-

[1] Предварительный обжиг петли осуществляется последовательным внесением в пламя горелки (3–4 раза) всей длины петли для прогрева с последующим медленным прокаливанием докрасна. При этом проверяется целостность кольца петли. При заборе материала петлю остужают о внутреннюю стенку ёмкости, из которой осуществляют забор.

[2] Особенно ловкие специалисты предпочитают захватывать пробирку большим пальцем, безымянным и мизинцем, чтобы указательным и средним обхватывать пробку для её извлечения.

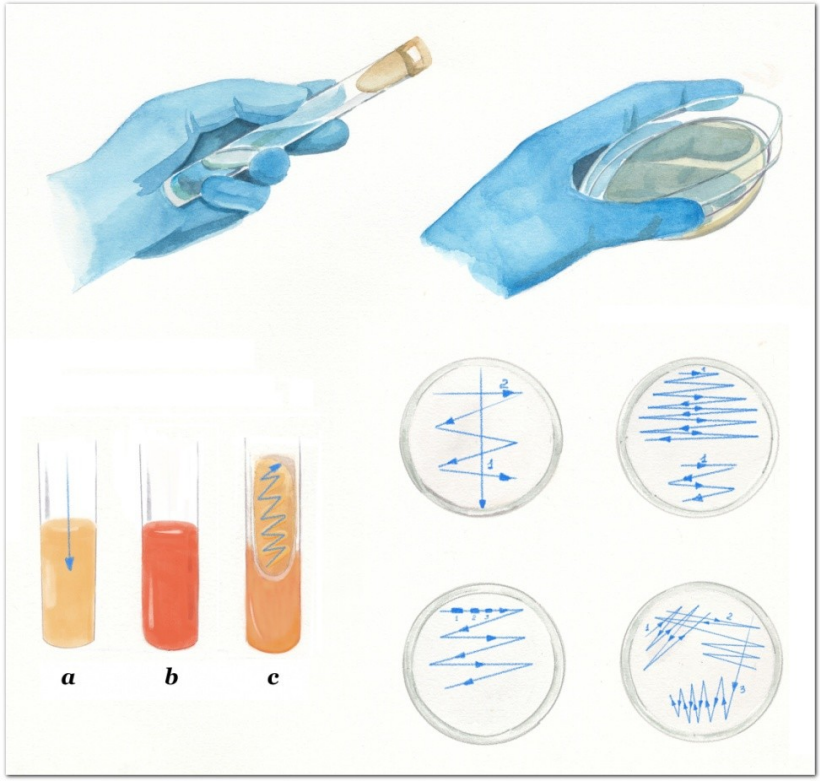


Рис. 30.2. *Расположение пробирки и чашки Петри в руке (верхний ряд) и техника посева культуры (нижний ряд; движения петли обозначены синим). Посев осуществляется в жидкий (b) и полужидкий (a, c) агар, а также на чашки (во всех случаях, кроме нижнего правого, действия выполняются без обжига петли; на верхней правой чашке – посев «площадкой»)*

ния материала на петле вне ёмкостей и, следовательно, снизит риск аварий. Материал вносится либо проколом в толщу агара (для этого можно использовать иглу[1]), либо на поверхность скошенной части агара («косяка»), не касаясь стекла пробирки. В случае жидкого агара (бульона), культуру вносят на стенку пробирки у самой кромки бульона и аккуратными круговыми движениями смывают в бульон. Удобнее всего держать пробирку под углом 45° к поверхности, над которой осуществляют работу (Рис. 30.2).

[1] Некоторые специалисты заранее загибают кончик петли под 90°.

В случае чашки Петри её подсушивают (чтобы избежать конденсата[1]), после чего располагают на ладони левой руки, придерживая крышку большим и указательным пальцами (Рис. 30.2). Для посева материала крышка немного приоткрывается (можно зафиксировать крышку и приопустить дно чашки), чтобы образовавшаяся щель была достаточной для свободного прохода петли, которая не должна касаться краёв чашки (касание является аварией без разбрызгивания). Во время посева петля плавно скользит по поверхности агара, без нажима, не царапая его поверхности и не касаясь бортов чашки (Рис. 30.3). Важно разнести материал по поверхности агара таким образом, чтобы получились так называемые *изолированные колонии* – визуально круглые скопления бактерий, произошедшие из одной бактериальной клетки. Если материал вносится пипеткой, то удобнее положить чашку на салфетку и, приоткрыв её, аккуратно внести материал, чтобы не было брызг (брызги являются аварией с разбрызгиванием). Далее внесённый материал разносится по поверхности агара петлёй или шпателем (так называемый «сплошной газон»)[2].

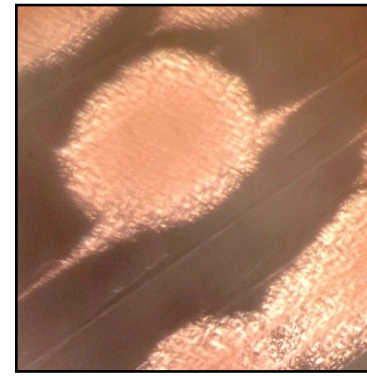


Рис. 30.3. *Пример агрессивного посева на плохо просушенный агар, при котором изолированная колония «расползается» по прорези на агаре, оставленной петлёй*

Пунктат из бубона вносят на поверхность агара петлёй или пипеткой, после чего рассеивается штрихами петлёй или растирается шпателем. Дополнительно 0,1 мл материала вносят в пробирку с

[1] Если на крыше уже имеется конденсат, то её аккуратно меняют на сухую. Относительно действий в том случае, когда конденсат образовался уже после инкубации, существуют различные мнения. Наиболее целесообразным видится положить такую чашку (дном вверх) на салфетку, обильно смоченную раствором дезинфектанта, а рядом расположить чистую чашку в таком же положении. Далее аккуратно поменять местами дно чашки, чтобы над крышкой с конденсатом оказалось дно чистой чашки, после чего чашку следует аккуратно поместить в контейнер с раствором дезинфектанта.

[2] Ряд специалистов предпочитает «раскатывать» каплю по чашке путём её аккуратного покачивания, но данный способ требует определённой сноровки.

бульоном, а остатки материала используют для заражения лабораторных животных (об этом далее). Если материала доставлено недостаточно, то его следует развести в 0,3–0,5 мл бульона.

Материал из вскрывшегося бубона (язвы, карбункула) засевают на агар с генцианвиолетом[1] и сульфитом натрия или лизированной кровью.

Слизистое отделяемое ротовой полости и зева зондом (тупфером) засевают на агар с генцианвиолетом, а затем помещают в пробирку с 2 мл бульона Хоттингера, Мартена или LB с добавлением генцианвиолета, тщательно отжимая о её стенки. Далее полученной взвесью заражают биопробных животных.

Мокрота, которая может быть с примесями крови, вносится на поверхность агара петлёй (2–3 раза) или пипеткой (10 мкл), после чего рассеивается штрихами петлёй или растирается шпателем. Остатки материала на петле или шпателе без обжига (!) переносят на второй и третий агар. Если мокрота вязкая, то её комочек стерильным пинцетом[2] или большой петлёй переносят на поверхность агара, после чего рассеивают штрихами петлёй или растирают шпателем, перенося остатки материала (без обжига) на второй агар.

Кровь в виде сгустка осторожно переносят на чашку, где стерильными иглами нарушают его целостность, максимально высвобождая жидкую кровь от фибрина. Затем 0,1 мл крови вносят на поверхность агара, растирая шпателем, а также вносят в пробирку с бульоном. Остатки крови используют для заражения биопробных животных.

Фрагменты органов гомогенизируют с добавлением физиологического раствора. Возможно растирание в ступке со стерильным песком с добавлением до 2 мл физиологического раствора. Допускается для одной суспензии объединять органы не более чем от

[1] В концентрации 1 : 100000; рекомендуется также засеивать агар без генцианвиолета, чтобы избежать вероятности потери культуры.

[2] Поскольку пинцет, как и любой металлический инструментарий, невозможно прокалить докрасна, его рабочую часть (концы) опускают в 95%-ный раствор этилового спирта и обжигают в пламени горелки (спирт держат на расстоянии во избежание воспламенения), после чего дают остыть.

10 мелких животных и от 5 крупных. В случае птиц, домашних и сельскохозяйственных животных, а также человека допускается объединять только фрагменты одного органа (например. фрагменты левого и правого лёгких). Одну каплю полученной суспензии (гомогенизата) вносят петлёй на поверхность агара и рассеивают частыми штрихами. Если исследуются органы верблюда, то суспензия от каждого органа высевается на отдельную чашку с добавлением 100 мкг/мл фосфомицина.

Параллельно с этим при патологоанатомическом вскрытии целесообразно производить *посев отпечатками органов*. Для этого предварительно обожжёнными (и остуженными) ножницами отрезают фрагмент органа, после чего пинцетом (также предварительно обожжённым и остуженным) берут отрезанный фрагмент и прислоняют его несколько раз отрезанной поверхностью (отпечатывают) к поверхности агара. Допускается на одной чашке делать отпечатки нескольких органов, а также сеять материал от двух животных (при этом чашка делится на сектора и каждый сектор подписывается).

Эктопаразитов (кроме блох), счёсанных с носителей, а также собранных в их норах и жилищах людей, промывают один раз 95%-ным раствором этилового спирта, дважды – физиологическим раствором и гомогенизируют с добавлением физиологического раствора. Возможно растирание в ступке. Одну каплю полученной суспензии (гомогенизата) вносят петлёй на поверхность агара и рассеивают частыми штрихами. В один пул берутся эктопаразиты, сгруппированные по виду, месту и объекту сбора, упитанности и фазе развития. Клещей в один пул берут голодных не более 30 самок и 50 нимф, напившихся – не более 3 самок, 15 нимф и 30 личинок. Перед гомогенизацией самок целесообразно разрезать ножницами (предварительно обожжёнными и остуженными), а при растирании в ступке – прикрыть её крышкой от чашки, чтобы избежать аварии с разбрызгиванием. Вшей берут в один пул до 50 экземпляров.

Блох перед гомогенизацией не промывают, но усыпляют эфиром и гомогенизируют[1] с добавлением физиологического раствора.

[1] Иногда аккуратно пинцетом извлекают пищевод и исследуют его.

Одну каплю надосадочной жидкости вносят петлёй на поверхность агара и рассеивают частыми штрихами. В один пул берутся блохи с одного животного или одной норы (жилища), но не более 20–30 насекомых одного вида. При их обилии допускается брать в один пул до 50 блох. Собранные с трупов или больных животных (имеющих патологоанатомические изменения) блохи исследуются индивидуально.

Почву нор, погадки птиц и остатки пищи в количестве 50–100 г гомогенизируют с физиологическим раствором до получения 15–20 мл суспензии, которую аккуратно перемешивают 5–10 минут и отстаивают 3–5 минут. Отбирают надосадочную жидкость, фильтруют или центрифугируют (2–3 минуты при 5000 об/мин). Отбирают супернатант, снова центрифугируют (15 минут при 12000 об/мин) и осадок суспендируют в физиологическом растворе. Одну каплю полученной суспензии вносят петлёй на поверхность агара и рассеивают частыми штрихами.

Воду центрифугируют (15 минут при 9000 об/мин) и полученный осадок суспендируют в физиологическом растворе. Одну каплю полученной суспензии вносят петлёй на поверхность агара и рассеивают частыми штрихами (рекомендуется осуществлять посев на агар с сердечно-мозговым экстрактом на случай присутствия некультивируемых форм, о чём подробнее скажем далее). Если вода включала примеси (например, ил), то её следует предварительно профильтровать (размер пор фильтра не менее 0,45 нм).

Все посевы (чашки Петри вверх дном) помещают в термостат. Оптимальной температурой для инкубирования (т. е. выращивания) является 28°С, поскольку, если инкубировать при привычных 37°С, колонии образуются вязкие, и их труднее снимать с агара (Рис. 30.4), что, как мы помним, помогло Александру Йерсену получить чистую культуру[1]. Однако в ряде случаев, о которых погово-

[1] Морфологический анализ показывает, что коллекционные штаммы, выращенные при 28°С, характеризуются наличием однородных по морфологии клеток (вариация линейных размеров менее 10%) с шероховатостью 25 ± 5 нм, что обусловлено длительным хранением и многочисленным пассивированием. При повышении температуры до 30°С объём клеток таких штаммов увеличивается в среднем в 1,7 раза (шероховатость увеличивается на 5 нм за счёт синтеза капсулы и увеличения плотности липополисахарида), а при снижении до 4°С – уменьшается в 2,1 раза

рим далее, инкубируют и при 37°C [1] . Вынимают засеянные чашки из термостата в положении, параллельном поверхности стола (пола). Переворачивать их не рекомендуется из-за опасности возможного вытекания конденсационной воды. Если её много, крышку помещают в контейнер с раствором дезинфектанта, аккуратно заменив на новую.

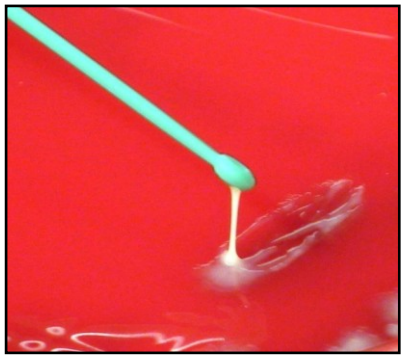


Рис. 30.4. *Культура чумного микроба, тянущаяся за палочкой*

Морфология колоний чумного микроба несколько различается в зависимости от питательной среды (Рис. 30.5), но по мере инкубации все они проходят общие стадии. Если просматривать культуры под микроскопом, то через 8–12 часов можно наблюдать прозрачные микроколонии, называемые «*битое стекло*» (Рис. 30.6-a), а к 18–24 часам – в виде плоских фестончатых образований, называемых «*кружевные платочки*» (Рис. 30.6-b). В косопроходящем пучке света колонии чумного микроба имеют песочный оттенок, шероховатые, с неровными краями (Рис. 30.7). Следует отметить, что изолированная колония – это уже сформировавшийся биологический организм, в котором клетки разделяются на доминирующий и субдоминирующий кластеры, поэтому при пересеве они способны вос-

(формируются клетки коккоподобной формы с шероховатостью 20 ± 5 нм). Природные штаммы, напротив, характеризуются гетерогенностью популяции на клеточном уровне (вариации более 10%), что повышает выживаемость. Наряду с типичными присутствуют более вытянутые клетки (шероховатость 22 ± 5 нм). В то же время закономерности изменения морфологии клеток совпадают: при повышении температуры до 30°C объём клеток таких штаммов увеличивается в среднем в 1,9 раза (шероховатость увеличивается до 48 ± 11 нм), а при снижении до 4°C – увеличивается в 1,9 раза (формируются уплотнённые клетки с шероховатостью 18 ± 3 нм), что, вероятно, обусловлено присутствием более вытянутых клеток.

[1] Следует помнить, что для получения культуры, богатой капсульным антигеном (фракцией I), необходимо не только инкубировать посевы при 37°C, но и использовать богатые питательные среды, такие как LB-агар или агар Хоттингера, обогащённый питательными компонентами (например, средой 199 из расчёта 3 мл добавки на 100 мл питательной среды).

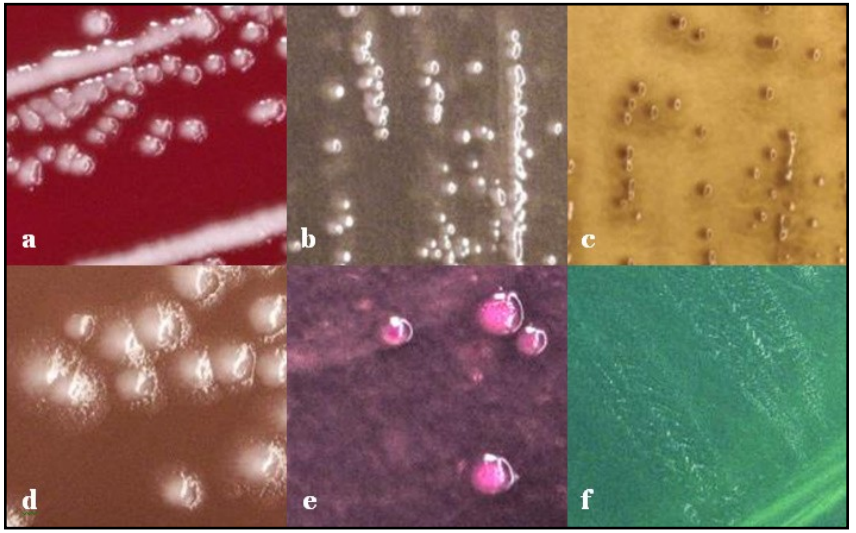


Рис. 30.5. *Колонии Y. pestis, выращенные на SBA-агаре (a), агаре МакКонки (b – через 48 часов, c – через 72 часа), шоколадном агаре (d), а также селективных SIN-агаре (e) и HEK-агаре (f)*

производить свою уникальную архитектонику. Такое «разделение ролей» и приводит к образованию уникальных форм, видимых при незначительном увеличении. Обратите внимание, как визуально похожие на чашках колонии разных представителей семейства *Yersinia* уникальны в косопроходящем пучке света, хотя иногда эта уникальность заметна только специалисту с большим опытом (Рис. 30.6 – 30.8)! Именно поэтому на практике не полагаются только на визуальные методы, но об этом позже.

К 48 часу чумной микроб формирует типичные, диаметром до 2 мм, жёлто-коричневые колонии R-типа с выпуклым более тёмным мелкозернистым центром и плоским волнистым фестончатым краем. Именно их пересевают на чашки для дифференциальной диагностики и в пробирки со скошенным агаром для подтверждения чистоты культуры, её накопления и хранения. По мере старения, к 72 часу, центр колоний становится более грубым, непрозрачным, приобретает серовато-коричневый оттенок (Рис. 30.9). На скошенном агаре чумной микроб растёт в виде сочного серовато-белого налёта (Рис. 30.10).

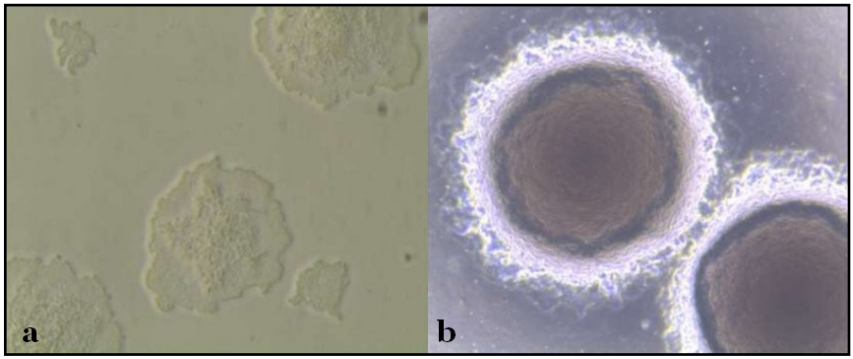


Рис. 30.6. *Колонии чумного микроба стадии «битое стекло» (a; ув.100х, агар МакКонки) и «кружевные платочки» (b; ув. 20х, МакКонки). Александр Йерсен писал, что «их края при рассмотрении кажутся радужными», а Китасато Сибасабуро видел их голубоватыми.*

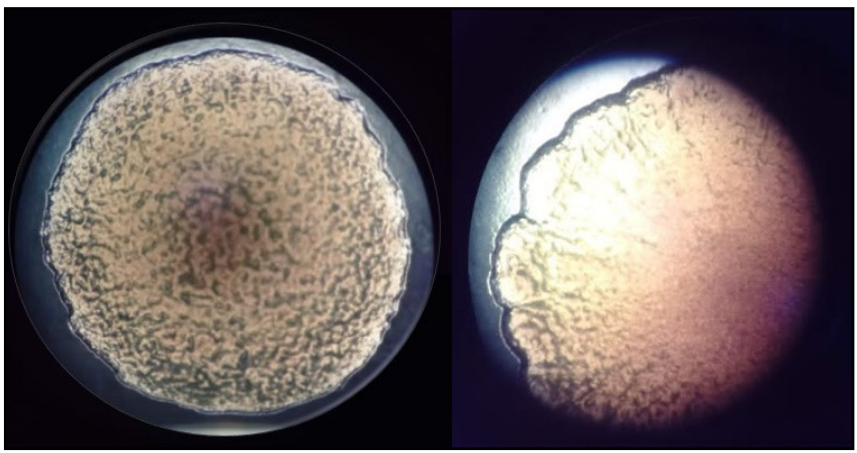


Рис. 30.7. *Колония чумного микроба в косопроходящем пучке света*

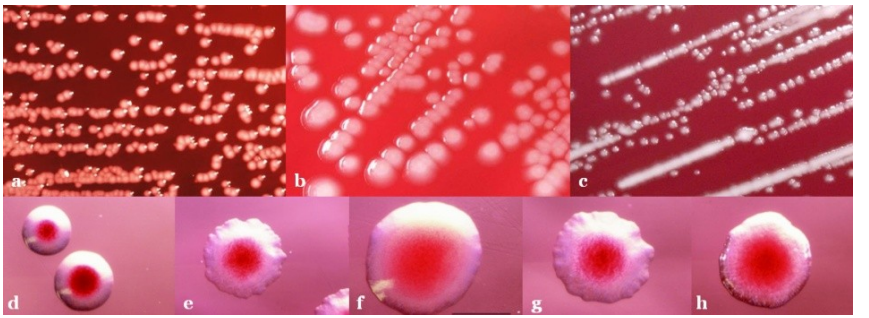


Рис. 30.8. *Колонии патогенных для человека представителей рода Yersinia: Y. enterocolitica (a), Y. pseudotuberculosis (b) и Y. pestis (c) на агаре. В нижнем ряду показаны отдельные колонии Y. enterocolitica патогенных серотипов O:3 (d) и O:5,27 (e), непатогенного серотипа BT1A (f), а также бывших биоварианто в 3A и 3B – Y. bercovieri (g) и Y. mollaretii (h). Обратите внимание на характерный для Y. enterocolitica O:3 вид колонии «бычий глаз», а также визуальное сходство колоний Y. enterocolitica O:5,27 и Y. bercovieri (нижний ряд по Hallanvuo S., 2006; публикуется по лицензии The American Society of Microbiology, разрешение передано через Copyright Clearance Center, Inc)*

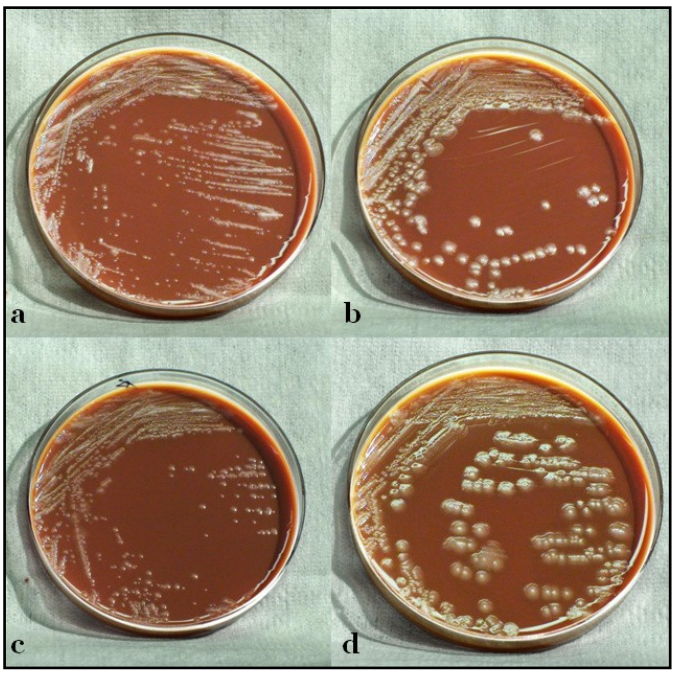


Рис. 30.9. *Культура чумного микроба к 48 и 72 часу инкубации, выращенная на шоколадном агаре при 25°C (a, b) при 37°C (c, d)*



Рис. 30.10. *Культура чумного микроба на скошенном агаре («косяке»)*

Будучи факультативным анаэробом, в бульоне чумной микроб растёт в виде нежной плёнки на поверхности либо в виде рыхлого хлопьевидного или порошковидного осадка, легко распадающегося при аккуратном взбалтывании (Рис. 30.11).

Ранее мы говорили, что вирулентные штаммы чумного микроба существуют в R-форме, что особенно хорошо видно на Рис. 30.5. Однако он также может существовать в **L-форме**[1], которая встречается в солёных почвах очагов Северной Африки. Эта форма способна вызывать скрытую инфекцию, а также формироваться при неадекватной антибиотикотерапии. В бульонах такие культуры растут в виде нитчатых колоний, а на агаре образуют мелкие (до 1 мм) колонии округлой формы (Рис. 30.12). Электронная микроскопия (Рис. 30.13) показывает, что L-формы округлые и меньше размером (937 x 901 мкм), чем «обычные» клетки *Y. pestis* (1340 x 810 мкм). Кроме того, они имеют более тонкую клеточную стенку. Интересно, что чумной микроб подвергается не прямому воздействию высоких концентраций соли, а постепенному, как бы ступенчатому. Такая прогрессивная адаптация становится возможной благодаря уменьшению поверхности, контактирующей с солью, что обеспечивается активацией белков внешней мембраны, включая «насосный» белок TolC, «выка-

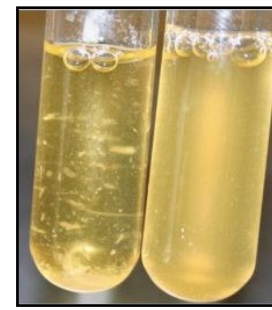


Рис. 30.11. *Хлопьевидный рост Y. pestis в бульоне к 48 часу инкубации (слева) в сравнении с Y. pseudotuberculosis*

[1] Несмотря на то, что впервые данные формы бактерий были обнаружены в 1894 году Николаем Фёдоровичем Гамалеей, буква L указывает на Институт Листера (Lister Institute of Preventive Medicine), в честь которого германско-британский микробиолог Эмми Клинебергер-Нобель (1892–1985) назвала эти формы, обнаружив их в 1935 году.



Рис. 30.12. *Культура чумного микроба к 7 неделе инкубации, выращенная в триптиказо-соевом бульоне (a) и выращенная на SBA-агаре (b, правая чашка). Обе среды содержали 150 г/л NaCl. Обратите внимание, насколько больше колонии чумного микроба, выращенные на SBA-агаре (b, левая чашка) без добавления соли (по Malek M. A., 2017)*

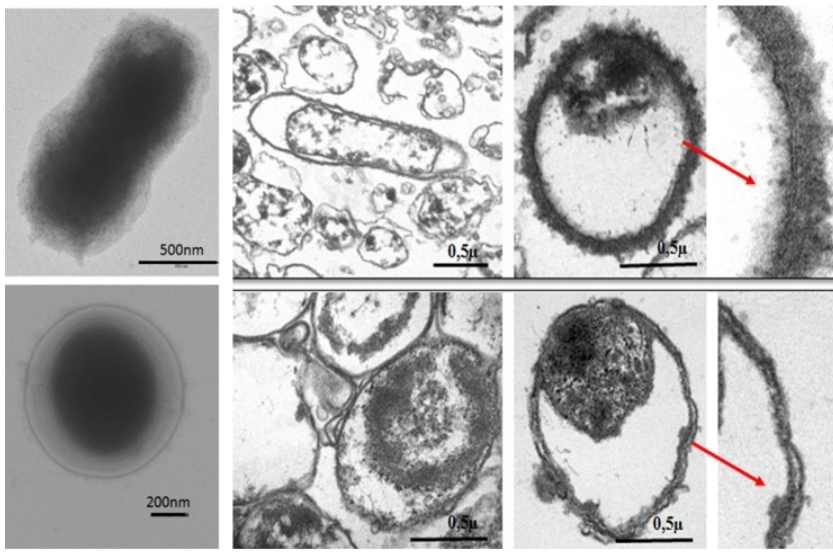


Рис. 30.13. *Электронная микроскопия клеток чумного микроба (верхний ряд) и клеток чумного микроба, подвергшихся воздействию NaCl (нижний ряд). Красными стрелками отмечены клеточные стенки (по Malek M. A., 2017). Именно такое их расположение обеспечивает биполярное окрашивание, которое мы видели на Рис. 13.8*

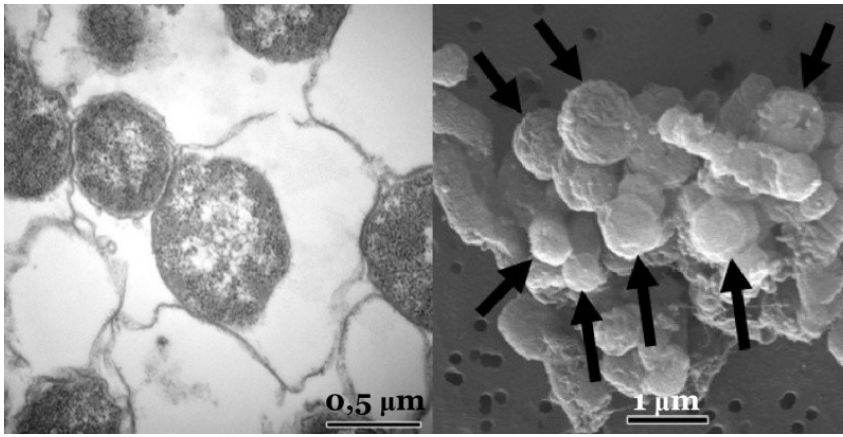


Рис. 30.14. Электронная микроскопия клеток чумного микроба в некультивируемой форме. Стрелками отмечены клетки коккоподобной формы (по Pawlowski D. R., 2011). Сравните их с L-формой на Рис. 30.13

чивающий» токсичные соединения из бактерии, а также порин OmpF, регулирующий осмотическое давление. Немалую роль в этом процессе играет и натрий-водородный обменник (антипортер Na^+/H^+), обеспечивающий ионный обмен между клеткой и средой (также является фактором вирулентности).

Помимо L-форм, в ответ на действие неблагоприятных факторов, чумной микроб может переходить в **некультивируемые формы** (VBNC, от англ. **v**iable **b**ut **n**on-**c**ulturable), когда бактерия находится в состоянии крайне низкой метаболической активности и не способна к делению. Опасность такого состояния заключается в том, что бактериальная клетка остаётся живой и при благоприятных условиях, например, проведении определённых манипуляций («реанимации»), может перейти обратно в культивируемую форму. Вполне возможно, что длительные межэпизоотические периоды обусловлены переходом чумного микроба в эту форму. Об этом следует помнить, проводя исследования проб окружающей среды (особенно воды).

Экспериментально доказано[1], что пребывание *Y. pestis* в холодной водопроводной воде (4°C) способно к 28 дню перевести 10^6 КОЕ/мл в некультивируемую форму[2]. Клетки этой формы имеют морфологические изменения: цитоплазма сконденсирована в небольшой округлый цитозоль, а периплазматическое пространство, соответственно, значительно увеличено (Рис. 30.14). Для «реанимации» клетки культивировали в бульоне с сердечно-мозговым экстрактом, однако количество выросших клеток оказалось невелико.

* * *

Полученные культуры, а также образцы клинического материала (пунктат из бубона, кровь, мокрота, срезы и отпечатки органов) исследуют под микроскопом (*микроскопируют*) с целью визуального обнаружения микроба. Ранее мы уже видели мазки крови (Рис. 7.6 и 13.8) и пунктата бубона (Рис. 13.6), а сейчас подробнее остановимся на технике их приготовления.

Для приготовления мазков необходимо использовать обезжиренные предметные стёкла. Для этого их вымачивают в хромовой смеси или 10%-ном растворе серной кислоты, после чего кипятят 30 минут в 5%-ном растворе соды, либо 30–40 минут в 1–3%-ном растворе гидроксида натрия с добавлением мыла[3], а утром кипятят в течение часа с добавлением мыла. Если используются новые стёкла, этап вымачивания можно пропустить. После кипячения стёкла многократно промывают водой, после чего обрабатывают спиртом

[1] Pawlowski D. R., Metzger D. J., et al. *Entry of Yersinia pestis into the viable but nonculturable state in a low-temperature tap water microcosm*. PLoS One. 2011; 6(3):e17585; DOI: 10.1371/journal.pone.0017585.

[2] Целостность клеточной мембраны и метаболическая активность свидетельствуют о том, что клетки не погибли. Первое проверяется путём обработки клеток нуклеазой ДНКазой I в течение суток (при нарушении целостности мембраны нукеаза разрушает геномную ДНК), а второе – путём инкубирования клеток со смесью радиоактивно меченных аминокислот (при сохранении метаболической активности, хотя и медленнее, аминокислоты будут включаться во вновь транслируемые белки, что можно определить по радиоактивной метке).

[3] Ранее также замачивали на ночь в 5%-ном растворе лизола, но из-за токсичности в ряде стран он вышел из употребления.

или смесью Ники́форова[1]. Однако на практике обезжиривание осуществляют путём тщательного натирания стекла куском мыла с двух сторон и полировки сухой тканью (с этой целью можно использовать полотенце, заткнутое за завязку противочумного халата). После обезжиривания держать стекло можно только за рёбра. Подписывают стекло на матовой поверхности карандашом[2], поскольку он не сотрётся во время дальнейшей фиксации, и кладут на специальный планшет для предметных стёкол, который ставят на поддон с салфеткой, смоченной раствором дезинфектанта. На практике вместо планшета используют чашку Петри с двумя спичками. Класть стекло без спичек не следует, поскольку взять такое стекло, не прикасаясь к его поверхности, будет крайне сложно. Чашку размещают рядом с горелкой, пламя которой обеспечивает чистоту работы.

С помощью петли на предметное стекло наносят физиологический раствор таким образом, чтобы капли (их количество соответствует количеству мазков) не соприкасались друг с другом. Обычно наносят две капли. Затем обожжённой петлёй рядом с каплей наносят культуру, плавными круговыми движениями растирают её и вносят в каплю, после чего, не обжигая петлю, можно внести её во вторую каплю. Это делается для того, чтобы получить второй, менее густой, мазок. Далее чашку накрывают крышкой, оставляя небольшое отверстие, чтобы мазки могли подсохнуть. Строго запрещается высушивать их над пламенем горелки, а также фиксировать в нём, поскольку в таком случае микроорганизмы не только не погибнут, но и имеется риск их аэрозолирования. Для фиксации мазки с помощью пинцета помещаются в фиксирующую жидкость (96%-ный раствор этилового спирта или реже смесь Никифорова), а сам пинцет обжигается в пламени горелки. Фиксация мазков

[1] Предложена российским врачом Михаилом Никифоровичем Ники́форовым (1858–1915). Способ приготовления: этиловый спирт и простой эфир серной кислоты в равных объёмах.

[2] Можно использовать карандаш по стеклу, который можно изготовить одним из следующих способов. Способ 1: смешать одну часть свиного сала с шестью частями воска, в которые при нагреве внести до тёмного окрашивания краску судан II ($C_{18}H_{16}N_2O$) тщательно перемешать и вылить в форму. Способ 2: расплавить семь частей воска с одной частью парафина, добавить три части касторового масла, краску судан III ($C_{22}H_{16}N_4O$) до получения тёмного окрашивания, тщательно всё перемешать, варить и вылить в форму.

продолжается 10–15 минут (для толстых мазков – 20 минут), но обычно фиксируют не менее 30 минут, чтобы мазок был полностью обеззаражен. После окончания фиксации мазок вынимают пинцетом и высушивают либо обжигают в пламени горелки, чтобы избавиться от остатков фиксирующей жидкости (если это не запрещено методикой, как в случае метода флуоресцирующих антител, о чём подробнее будет сказано далее).

Для приготовления мазка из *мокроты* посуду с ней необходимо располагать как можно ближе к предметному стеклу, поскольку данный материал вязкий и может упасть при переносе из посуды, а все манипуляции следует осуществлять над раствором дезинфектанта. Если мокрота густая, то кусочек её вносится в каплю физиологического раствора и растирается в ней.

Мазок с содержимым *бубона*, как говорилось в предыдущей главе, приготавливают у постели больного. Если он не был фиксирован, то фиксируют по методике, описанной выше.

Фиксированный мазок окрашивают по методу, предложенному в 1884 году Га́нсом Кристиа́ном Гра́мом[1] (**окраска по Гра́му**)[2]:

1) на мазок пинцетом кладут фильтровальную бумагу (она не должна свисать с краёв), на которую обильно наливают генцианвиолет (1 г в 10 мл 96%-ного раствора этилового спирта[3]);

2) через две минуты краску сливают, удаляют пинцетом фильтровальную бумагу и обильно промывают мазок дистиллированной водой, чтобы удалить с него остатки краски;

3) наносят раствор Люго́ля[4] на две минуты, снова промывают дистиллированной водой и наливают на полминуты 96%-ный рас-

---

[1] Hans Christian Joachim Gram, 1853–1938; датский врач, бактериолог. Автор работ по красным кровяным тельцам. Разработанная им методика окраски позволила Эмилю Ру в 1886 году разделить бактерии на грамположительные и грамотрицательные.

[2] Gram H. C. *Über die isolierte Färbing der Schizomyceten in Schnitt- und Trockenpräparaten*. Fortschritte der Medizin. 1884; 2:185–189.

[3] Свежеприготовленный раствор перед использованием необходимо отстоять при комнатной температуре сутки или два часа при температуре 37°С. В норме раствор может иметь осадок, фильтровать его не обязательно.

[4] Предложен французским врачом Жан-Гийомом Огюстом Люголем (1786–1851) в качестве препарата от туберкулёза. Способ приготовления: растворить 2 г йодида

твор этилового спирта для обесцвечивания мазка, после чего снова обильно промывают его дистиллированной водой[1];

4) наносят фуксин Пфе́йффера[2] (или сафранин) на одну минуту, после чего мазок снова промывают дистиллированной водой и просушивают.

Грамотрицательные бактерии (Г−) окрашиваются в красный цвет, а грамположительные (Г+) – в фиолетовый. Происходит это из-за того, что у грамположительных бактерий клеточная стенка содержит дополнительный липополисахаридный (эндотоксический) слой, который удерживает генцианвиолет и раствор Люголя, не давая его смыть[3]. У грамотрицательных бактерий, напротив, клеточная стенка тонкая, и генцианвиолет с раствором Люголя легко смываются и обесцвечиваются спиртом.

В условиях мобильных лабораторий целесообразно окрашивать по Граму в модификации А. И. Синёва. Для этого готовят раствор, состоящий из 1 г кристаллвиолета (метилвиолета или генцианвиолета), 5 г глицерина и 100 мл 96%-ного этилового спирта, которым после суточного отстаивания пропитывают полоски фильтровальной бумаги. Эти полоски можно достаточно долго хранить в тём-

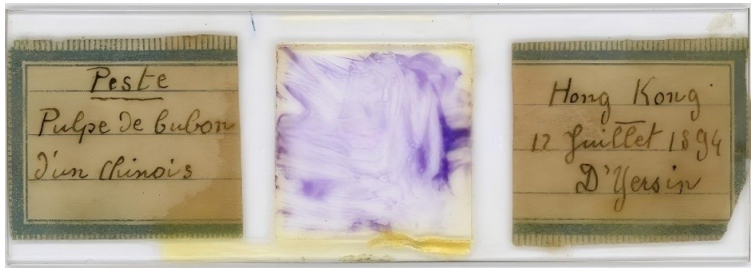
---

калия в 2 мл дистиллированной воды и после растворения добавить 1 г кристаллического йода. Энергично встряхивать до растворения йода и добавить 300 мл дистиллированной воды, после чего профильтровать.

[1] Начинающим специалистам, по мнению советского (российского) врача Николая Ивановича Розанова, целесообразнее использовать на данном этапе раствор так называемого йодированного спирта (2-4 мл 10%-ного спиртового раствора йода на 100 мл 95%-ного раствора этилового спирта), который наносят на две минуты, после чего обильно промывают дистиллированной водой.

[2] Предложен немецким врачом Ри́хардом Фри́дрихом Иога́нном Пфе́йффером (1858–1945) как модификация способа немецкого врача Фра́нца Ци́ля (1857–1926). Способ приготовления: к 1 г тщательно растёртого сухого основного фуксина прибавить небольшими порциями (растирается каждая порция) 5 г кристаллической карболовой кислоты или добавить по каплям 5 мл 97%-ной карболовой воды. Продолжая растирание, прибавить по 16–20 капель глицерина, затем 10 мл этилового спирта и довести небольшими порциями дистиллированной воды до 100 мл. Приготовленный раствор фильтруется (он должен иметь на своей поверхности плёнку металлического вида) и разводится дистиллированной водой в соотношении 1:10.

[3] За исключением *Deinococcus-Thermus spp.*



Фиксированный мазок с «мякотью бубона китайца», сделанный Александром Йерсеном 11 июля 1894 года (через 21 день после открытия возбудителя чумы)

ной таре с притёртой пробкой[1]. На фиксированный мазок наносят 2-3 капли дистиллированной воды, после чего с помощью пинцета накладывают полоску и слегка придавливают её к стеклу. Через 2 минуты снимают и промывают дистиллированной водой. Далее продолжают окраску по Граму по ранее обозначенной схеме со стадии 3.

В качестве альтернативы используют **окраску метиленовым синим** («синькой»), предложенную[2] Фри́дрихом Лёффлером[3]. Растворяют 3 г метиленового синего в 2 мг 96%-ного раствора этилового спирта. Приливают 1 мл 1%-ного раствора гидроскида калия и 100 мл дистиллированной воды, после чего тщательно перемешивают. Приготовленная краска должна созревать несколько месяцев, поэтому для ускорения созревания её заливают в посуду наполовину, закрывая рыхлой ватной пробкой для лучшей аэрации. Созревший раствор устойчивый и может храниться, закрытый стек-

[1] В отсутствие фильтровальной бумаги, по совету советского (российского) врача Натальи Никифоровны Клемпа́рской (1914–2003), возможно использовать полоски газетной бумаги, пропитанные 10%-ным спиртовым раствором генцианвиолета. Кроме того, целесообразно приготавливать красящие бумажки для всех растворов: для генцианвиолета (клисталлвиолета, метилвиолета) – к 10 мл этилового спирта добавляют 1 г краски и 0,5 мл глицерина; для раствора Люголя – к 1 г кристаллического йода добавить 2,5 г йодида калия и 10 мл дистиллированной воды; для фуксина – к 0,1 г краски добавить 0,5 мл карболовой кислоты.

[2] Löffler F. *Weitere Untersuchungen über Beizung und Färbung der Geißeln bei den Bakterien*. Centralblatt für Bakteriologie. Mai 1890. Bd. VII.S. 625.

[3] Friedrich August Johannes Loeffler, 1852–1915; германский (прусский) врач, бактериолог, гигиенист. Один из основоположников медицинской микробиологии, открыл возбудитель сапа.

лянной или резиновой пробкой, несколько лет. Для окраски на фиксированный мазок наносят раствор таким образом, чтобы он покрыл его полностью, выдерживают пару минут и смывают.

Грамположительные бактерии окрашиваются в голубой цвет, а грамотрицательные – в тёмно-синий.

Легко и быстро определить грамотрицательную культуру можно с помощью теста, предложенного[1] в 1978 году Т. Грéгерсеном[2], в основе которого лежит способность клеточной стенки грамположительных бактерий сохранять целостность при воздействии гидроксидом калия. Для постановки теста исследуемую культуру суспендируют в 3%-ном растворе гидроксида калия (подобно тому, как готовят мазок). С точки зрения биологической безопасности целесообразнее делать это в чашке. Если в результате суспензия стала вязкой и нити слизи тянутся за петлёй на 1–2 см (т. е. имеет место разрушение клеточной стенки), то исследуемая культура является грамотрицательной. В этом случае, хотя культура и грамотрицательная, тест называют положительным (вот такой парадокс).

Критерии определения случая чумы, установленные Всемирной организацией здравоохранения, предполагают также окрашивание по Вéйсону и Гúмзе, благодаря которым возможно увидеть характерную для клеток чумного микроба биполярность (по типу «английских булавок»). Рассмотрим их.

Окрашивание по Романóвскому – Гúмзе, известное как «раствор Гимзе для окрашивания по Романовскому» (нем. Giemsasche Lösung für die Romanowsky Färbung)[3] было разработано Дмитрием Леонидовичем Романóвским[4] и Густавом Гúмзой[1]. Суть метода за-

---

[1] Gregersen T. *Rapid method for distinction of gram-negative from gram-positive bacteria.* Eur J Appl Microbiol Biotechnol. 1978; 5:123–127.

[2] T. Gregersen; датский ветеринарный врач.

[3] Справедливости ради нужно отметить, что метод окрашивания был впервые предложен в 1889 году польским врачом Чеславом Хенцинским и получил известность благодаря работам российского врача Дмитрия Леонидовича Романовского. Позже метод был уровершенствован Джеймсом Гомером Райтом и Густавом Гимзой.

[4] 1861–1921; российский врач, терапевт, гематолог, бактериолог. Дал описание строения малярийного плазмодия.

ключается в том, что краситель[2] растворяют в дистиллированной воде (1–2 капли на 1 мл воды) и наливают в чашку Петри, куда предварительно помещена подставка под предметное стекло. Затем мазок, предварительно фиксированный в метиловом спирте, помещают в чашку Петри таким образом, чтобы он соприкасался с раствором (т. е. стороной, на которую нанесён мазок, вниз) и оставляют до двух часов (но не менее получаса).

Разновидностью описанного метода является **окрашивание по Ра́йту**, предложенное Дже́ймсом Гоме́ром Ра́йтом[3]. Суть метода заключается в том, что на нефиксированный мазок, помещённый в чашку Петри, наносят несколько капель красителя[4] и выдерживают минуту, после чего добавляют равное количество дистиллированной воды. Через 2–3 минуты мазок промывают дистиллированной водой до тех пор, пока не появится розоватый оттенок.

Окрашивание по Ве́йсону, предложенное Н. Е. Ве́йсоном[5], также позволяет увидеть биполярное окрашивание клеток чумного микроба. Сообщается[6], что метод наиболее чувствителен в случае чумного менингита. Суть метода заключается в том, что на мазок, предварительно нагретый и остуженный (помним: данный этап не является обеззараживанием!), помещённый в чашку Петри, наносят несколько капель красителя[7] и выдерживают 10–20 секунд, после чего заливают дистиллированной водой и высушивают.

---

[1] Gustav Giemsa, 1867–1948; немецкий химик, фармацевт, бактериолог. Автор работ по тропической медицине.

[2] Способ приготовления: состав, состоящий из 3,772 г хлорида диметилтионина (азур B, азур II), 2,165 г эозина и 1,563 г метиленового синего, растворяют в 750 мл метанола и 256 мл глицерина.

[3] James Homer Wright, 1869–1928; американский врач, патологоанатом.

[4] Способ приготовления: 1%-ный раствор метиленового синего на 0,5%-ном водном растворе гидрокарбоната натрия нагревают до 100°C и кипятят в течение часа, после чего охлаждают и фильтруют. Затем к 100 мл фильтрата, имеющего пурпурный оттенок, добавляют 500 мл 0,1%-ного водного раствора эозина. Выпавший осадок фильтруют, высушивают и растворяют в метиловом спирте (0,1 г красителя на 60 мл спирта).

[5] N. E. Wayson; американский врач, бактериолог.

[6] Meyer K. F., Batchelder A. P. *A disease in wild rats caused by Pasteurella muricida*. J Infect Dis. 1926; 39:386–412.

[7] Способ приготовления: раствор, состоящий из 0,2 г основного фуксина, 0,75 г метиленового синего и 20 мл 95%-ного раствора этилового спирта, медленно влива-

Для обнаружения *капсулы* используют следующие способы окраски.

Способ, предложенный Ольтом:

1. на мазок наносят свежеприготовленный 3%-ный водный раствор сафранина и подогревают над пламенем горелки;
2. через 3–6 минут с момента появления паров промывают дистиллированной водой и просушивают.

Микроорганизмы и фон мазка окрашиваются в ярко-оранжевый, а фон – в бледно-жёлтый. Если после окраски окраски сафранином на мазок нанести 1%-ный водный раствор метиленового синего (в течение 2 минут), то микроорганизмы окрасятся в синий цвет, а капсулы – в розовый.

Способ, предложенный Кле́ттем:

1. на только что обожжённый для удаления остатков фиксирующего раствора мазок (ещё тёплый) наносят свежеприготовленный кипящий раствор спиртовой синьки и подогревают;
2. через две минуты тщательно промывают дистиллированной водой;
3. наносят фуксин и через 30 секунд снова промывают дистиллированной водой, после чего просушивают.

Микроорганизмы окрашиваются в тёмно-синий цвет, а капсула – в розовый.

Способ, предложенный Ги́нсом:

1. на обезжиренное предметное стекло наносят капельку жидкой туши, вносят в неё петлёй культуру и растирают круговыми движениями (не размазывая каплю);
2. шлифованным стеклом делают мазок и фиксируют его;
3. на только что обожжённый для удаления остатков фиксирующего раствора мазок (ещё тёплый) наносят на 30 минут

ют в 200 мл 5%-ного раствора фенола, после чего фильтруют и хранят в непрозрачной таре.

метиленовую синьку Лёффлера [1] или на 5 минут фуксин Циля[2];

4. промывают дистиллированной водой и просушивают.

Микроорганизмы окрашиваются в синий (в случае синьки) или красный (в случае фуксина) цвет, а капсула будет бесцветной на тёмном фоне. При окрашивании данным способом следует сделать контрольный мазок из туши без бактерий, чтобы убедиться в отсутствии контаминации. Следует отметить, что некоторые специалисты окрашивают без обжигания после фиксации, чтобы не повредить капсулы.

Для изучения подвижности микроорганизмов готовят препараты висячей и раздавленной капли, что требует особенной осторожности. На поддон с салфеткой, смоченной раствором дезинфектанта, помещают чашку Петри, в которую кладут предметное стекло. Наносят на него с помощью петли агаровую культуру (как было описано выше) или одну каплю бульонной культуры. Рекомендуется использовать молодые культуры, только что взятые из термостата, поскольку по мере охлаждения культуры подвижность бактерий будет падать, а затем и вовсе прекратится. После нанесения культуры на предметное стекло берут покровное стекло (стекло с луночкой для висячей капли) и, предварительно нанеся на его края вазелин для лучшей фиксации, располагают его на предметном таким образом, чтобы его углы выступали за край (т. е. кладут ромбиком), что значительно облегчит его снятие. Подвижность изучают микроскопированием препарата, при этом бактерии, обладающие пассивной активностью, будут колебаться на одном месте, тогда как бактерии, обладающие активной подвижностью, перемещаются по полю препарата.

В качестве альтернативного (и более безопасного) метода используют посев культуры в столбик 0,3%-ного полужидкого агара Хоттингера или Мартена. Поскольку чумной микроб неподвижен,

---

[1] Предложена Лёффлером. Способ приготовления: в 100 мл дистиллированной воды с 1 мл 1%-ного раствора гидроксида калия добавляют 30 мл профильтрованного насыщенного спиртового раствора метиленового синего.

[2] Предложен немецким врачом Францем Цилем (1857–1926). Приготавливается как фуксин Пфейффера без последней стадии разведения дистиллированной водой в соотношении 1:10.

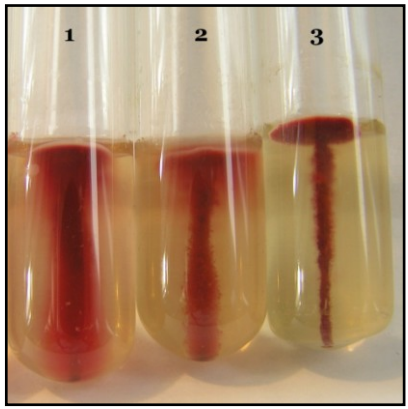


Рис. 30.15. *Тест на подвижность (в среду добавлен 1%-ный раствор 2,3,5-трифенилтетразолхлорида (ТТХ), окрашивающий культуру):*
1, 2 – Y. pseudotuberculosis;
3 – Y. pestis

рост будет наблюдаться только по ходу укола петли, тогда как подвижные бактерии диффундируют в питательную среду в виде облачка (Рис. 30.15). Для дифференциации *Y. pestis* от *Y. pseudotuberculosis* культуру следует выращивать при 20–22°C в течение 48–72 часов, поскольку подвижных клеток от *Y. pseudotuberculosis* может быть мало (необходимо время для их накопления и диффундирования в среду). Вместе с тем следует помнить об атипичных штаммах, о которых поговорим в Главе 38.

Нельзя обойти стороной интересный способ, благодаря которому можно легко разделить *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis*, которые в природных очагах очень часто циркулируют вместе. К предварительно нагретому и остуженному до температуры 40–45°C 0,35%-ному LB-агару добавляют 0,1 мл исследуемой культуры (10^6 м. к./мл), после чего быстро выливают на заранее подготовленную чашку (Рис. 30.16), которую инкубируют при 18°C. Примерно на третьи сутки на чашке появляются крупные и мелкие колонии, соответствующие *Y. pseudotuberculosis* (культура «расплывается» за счёт подвижности) и *Y. pestis* (Рис. 30.17), которые затем можно «извлечь» («уколом»).



Рис. 30.16. *Методика безопасного внесения агара в чашку*

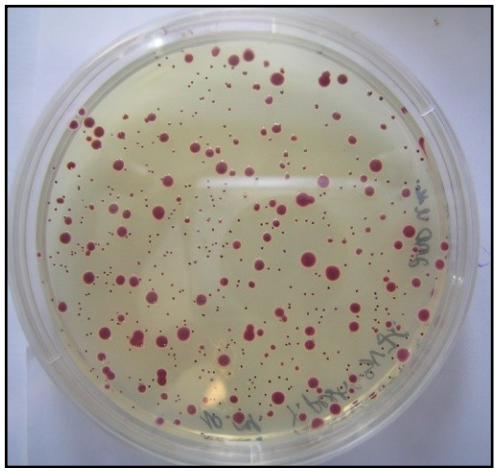


Рис. 30.17.
Рост изолированных колоний смеси Y. pseudotuberculosis (крупные колонии) и Y. pestis (мелкие колонии) в слое 0,35%-ного LB-агара, в который добавлен 1%-ный раствор ТТХ для окраски колонии (любезно предоставлено Татьяной Евгеньевной Арсеньевой)

Ещё один интересный способ, предложенный в середине прошлого века, заключается в добавлении в агар Хоттингера малахитового зелёного в концентрации 1:12000, что приводит к значительному подавлению роста *Y. pseudotuberculosis* при посеве 0,1 мл исследуемой культуры (10^5 м. к./мл). Колонии *Y. pestis* вырастают окрашенные в зелёный цвет, а на 5–7 сутки среда обесцвечивается.

После изучения препаратов и мазков, и их последующей окраски (Рис. 13.8, 30.18, 30.19) можно видеть, что

Y. pestis представляет собой грамотрицательную мелкую (1–3 × 0,5–0,7 мкм) неподвижную палочку прямой или овоидной, бочкообразной формы, для которой характерен полиморфизм: наряду с обычными коккобациллами и палочками встречаются более длинные палочки.
Окрашивается биполярно (по типу «английской булавки»).

Ранее мы говорили, что противочумные сыворотки больше не используются в клинической практике, но они нашли широкое применение в лабораторной диагностике. Одним из примеров такого применения является *метод флуоресцирующих антител* (МФА; РИФ, реакция флюоресценции), в котором антитела конъюгированы (т. е. соединены) с органическими флюорохромами – красителями, вызывающими флуоресценцию объекта при облучении коротковолновыми лучами (люминесцентной микроскопии).

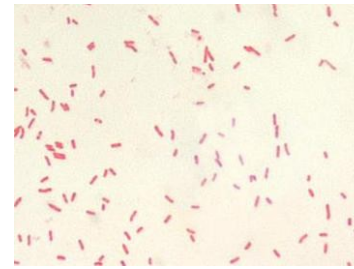


***Рис. 30.18**. Культура чумного микроба, окрашенная по Граму*

Различают *прямой* и *непрямой* метод, разработанный Альбертом Ку́нсом [1] (прямой совместно с Ме́лвином Капла́ном[2], непрямой совместно с То́масом Уэ́ллером[3]). В первом случае на исследуемый объект наносят флуоресцирующее антитело, в результате чего организуется связь «антиген – антитело». Данный метод считается наиболее чувствительным и специфичным, однако он позволяет обнаружить только один вид микроорганизма. Во втором случае на исследуемый объект наносят первое антитело (в результате чего организуется связь «антиген – антитело»), а затем второе антитело, являющееся флуоресцирующим и видоспецифичным против первого антитела (т. е. организуется связь «антиген – антитело – (ф) антитело»). Достоинством данного метода является возможность обнаружения различных микроорганизмов, а также антител.

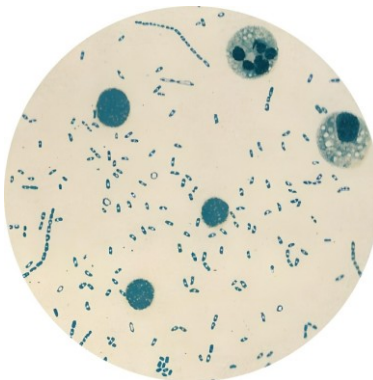


***Рис. 30.19.** Мазок мокроты от больного первичной лёгочной чумой, окрашенный по Лёффлеру (эпидемия чумы в городе Бомбей в 1897 году). Можно видеть биполярно окрашенные клетки чумного микроба, некоторые из которых расположены цепочками (по Albrecht H., 1898)*

Для обнаружения чумного микроба применяют прямой МФА, в котором используются флуоресцирующие антитела

[1] Albert Hewett Coons, 1912–1978; американский врач, иммунолог, бактериолог, патологоанатом.

[2] Coons A. H., Kaplan M. H. *Localization of antigen in tissue cells; improvements in a method for the detection of antigen by means of fluorescent antibody*. J Exp Med. 1950; 91(1):1–13; DOI: 10.1084/jem.91.1.1.

[3] Weller T. H., Coons A. H. *Fluorescent antibody studies with agents of varicella and herpes zoster propagated in vitro*. Proc Soc Exp Biol Med. 1954; 86(4):789–794; DOI: 10.3181/00379727-86-21235.

(«люм-сыворотка») против капсульного антигена. Данный метод является обязательным в критериях определения случая чумы (вероятный и подтверждённый случаи) Всемирной организации здравоохранения и позволяет получить результат в течение одного-двух часов. При всей простоте и лёгкости данный метод имеет два серьёзных ограничения: во-первых, он не позволяет обнаружить бесфракционные штаммы, а, во-вторых, требует высокой концентрации микробных клеток в исследуемом образце (не менее 10^5 м.к./мл).

Для постановки прямого МФА готовят мазки из мокроты, содержимого бубона и крови, а также мазки культуры и мазки-отпечатки из органов животных. Процесс приготовления отличается от описанного ранее только тем, что после фиксации излишки спирта не обжигают, а высушивают. Затем мазок помещают в чашку Петри с комочком влажной ваты (т. н. влажная камера) и на поверхность наносят раствор флюоресцирующих антител (некоторые специалисты рекомендуют проводить окраску при 37°C). Через 20–30 минут мазок промывают физиологическим раствором и дистиллированной водой, после чего высушивают на воздухе (пропитка фильтровальной бумагой не допускается).

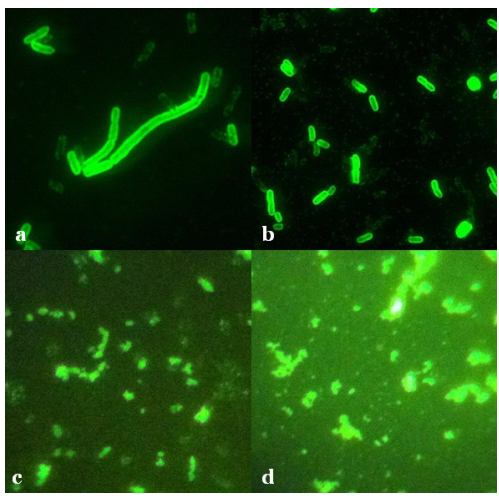


Рис. 30.20. *Специфическое (a и b) и неспецифическое (c) люминесцентное свечение бактерий Y. pestis, а также неспецифическое свечение (d), содержащее свечение посторонних включений.*

Для гашения неспецифического свечения (фона), которое может возникнуть на содержащиеся в образце примеси (Рис. 30.6-d), к раствору флуоресцирующих антител вместо физиологического раствора добавляют альбумин, меченный родамином, или обычную сыворотку.

На окрашенный мазок наносят нелюминес-

цирующее иммерсионное масло (допускается применение забуференного глицерина) и микроскопируют с помощью люминесцентного микроскопа. Специфическим для чумного микроба считают изумрудно-зелёное свечение клеток, при котором флуоресцирующая периферическая часть микробной клетки («ободок») чётко ограничена от центральной её части (Рис. 30.20).

Оценку результатов проводят по так называемой системе четырёх крестов:

4+	++++	яркая флуоресценция микробной клетки с чётко различимым «ободком» (положительный результат)
3+	+++	умеренная флуоресценция микробной клетки с чётко различимым «ободком» (положительный результат)
2+	++	слабая флуоресценция микробной клетки с еле различимым «ободком» (сомнительный результат)
1+	+	слабая флуоресценция микробной клетки без «ободка» (отрицательный результат)

…По каменистому берегу Симоодама́ти гуляет человек. Мелкие волны, накатываясь одна на другую, играют золотом в косых лучах вечернего солнца, словно струны ко́то[1]. Вокруг так тихо, что можно слышать собственные мысли. Эту картину умиротворения прерывает лишь еле виднеющееся свечение – это живущий в море ёкай Ама́биэ[2] своим зелёным светом пытается прогнать чуму, сигнализируя, как и люм-сыворотка, о её появлении…

---

[1] Традиционный японский щипковый музыкальный инструмент, представляющий собой длинную цитру. До XX века был солирующим инструментом.

[2] Яп. アマビエ; ёкай в виде русалки с длинными волосами и тремя ногами. Согласно легенде в мае 1846 года у побережья Восточно-китайского моря провинции Хиго́ (ныне – префектура Кумамо́то, Япония) стали появляться странные огни. Когда один из чиновников прибыл расследовать происходящее, к нему из воды вышел ёкай, поведавший своё имя и предрёкший хороший урожай в течение нескольких будущих лет. Кроме того, он уточнил, что если возникнет эпидемия, следует показывать его изображение заболевшим для исцеления. История и изображение были опубликованы в газете, став очень популярными (такие одностраничные газеты



Газета с изображением Амабиэ и рассказом о его появлении
(любезно предоставлено Главной библиотекой Киотского университета)

часто вешали на деревья). В XX веке изображение было запрещено, поскольку мешало проведению санитарных мероприятий (люди не хотели соблюдать предписания санитарных врачей, защищаясь изображениями), однако в XXI веке, во время пандемии COVID-19, оно было использовано Министерством здравоохранения Японии в качестве символа борьбы с пандемией.

31 СВОЙСТВА

Как и все бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, чумной микроб является оксидазо-отрицательным и каталазо-положительным, то есть в первом случае он не синтезирует цитохромоксидазу или индофенолоксидазу, которые катализируют перенос электронов от доноров водорода к акцепторам, а во втором – синтезирует каталазу, которая гидролизует перекись водорода с образованием воды и кислорода. Для исследования *оксидазной активности* используют 1%-ный раствор тетраметил-*p*-фенилендиамин дигидрохлорида (50 мг реагента на 5 мл дистиллированной воды; используют в течение суток!), который наносят на чашку с культурой в виде капли или пропитанной бумажки. При положительном результате бесцветный раствор окрашивается в тёмно-фиолетовый[1], но, как можно догадаться, в случае чумного микроба окрашивания не происходит. Для исследования *каталазной активности* используют 3%-ный раствор перекиси водорода, который наносят на свежеприготовленный (нефиксированный) мазок культуры. При положительном результате можно наблюдать появление пузырьков.

Поскольку набор ферментов, катализирующих все жизненно необходимые реакции, протекающие в бактериях, индивидуален для каждого вида (можно сказать, что это своего рода «вкусовые предпочтения» бактерии), исследование ферментативной активности каждого конкретного штамма позволяет определить его видовую принадлежность, а для некоторых бактерий, и чума тут не исключение, дифференцировать внутри вида (Табл. 31.1 и 31.2). Конечно, синтез ферментов кодируется генами и узнать о «вкусовых предпочтениях» мы могли бы легко с помощью современных молекулярно-генетических методов, в частности секвенирования, однако эти методы способны только определить наличие гена, но не ответить на вопрос, работает он или нет. Поэтому подобные бактериологические исследования, существующие уже несколько веков и

[1] Следует учитывать, что коммерческие тест-полоски часто дают ложноотрицательный результат.

кажущиеся на первый взгляд устаревшими, не теряют своей актуальности. Остановимся на них подробнее.

Исследование на *ферментацию углеводов и спиртов («пёстрый ряд»)* проводят для оценки способности микроорганизма ферментировать их до образования кислоты и иногда газа. Соответствующие углеводы (моно- и дисахариды) и многоатомные спирты добавляют к жидкой или полужидкой среде, содержащей индикатор, меняющий свой цвет (и цвет среды) под действием образующейся кислоты. В качестве среды используют основной бульон с феноловым красным, бульон с индикатором Андре́де[1], цистеин-триптиказовый агар, среды Гиса или коммерческие среды[2]. Обычно «пёстрый ряд» подразделяют на короткий и длинный. Первый включает в себя глюкозу, лактозу, сахарозу, мальтозу и маннит, а второй дополнительно содержит иные моносахариды (арабинозу, ксилозу, рамнозу и проч.) и многоатомные спирты (глицерин, дульцит и проч.). Посев осуществляется по описанной ранее методике, но без прожигания петли, поскольку вносится один и тот же материал, а перенос углевода настолько мал, что не отражается на результате. Засеянные среды минимум сутки инкубируют при оптимальной для микроорганизма температуре (в случае чумного микроба – при 28°С), хотя на практике не все пробирки «срабатывают», что зависит от среды, индикатора и «личных» предпочтений микроорганизма.



Рис. 31.1. *Положительная реакция на лактозу*

[1] Предложен американским бактериологом Е. П. Андреде (1872–1906). Способ приготовления: растворяют 0,5 г фуксина в 100 мл дистиллированной воды и добавляют 15 мл NaOH. Когда через 24 часа цвет раствора изменится с красного на коричневый, по каплям добавляют NaOH до конечной pH 7,1–7,2 (цвет раствора становится соломенно-жёлтым).

[2] Здесь и далее следует помнить, что в медицинской практике возможно использовать только зарегистрированные в установленном законом порядке медицинские изделия!

При положительной реакции, когда в качестве индикатора используется феноловый красный, среда меняет окраску с розово-красного цвета на жёлтый.

Исследование на *ферментацию глицерина* культурой чумного микроба рекомендуется проводить на твёрдой питательной среде, поскольку в жидкой его расщепление запаздывает, и это может привести к получению ложноотрицательного результата. Поэтому суточную культуру высевают на агар Коля – Белькура (площадкой или полоской) и инкубируют при 28°С до трёх суток. При положительной реакции культура растёт в виде красно-рыжих колоний (Рис. 31.2), достаточно часто окрашивая и агар в зоне посева (при отрицательной реакции культуры серовато-белые).

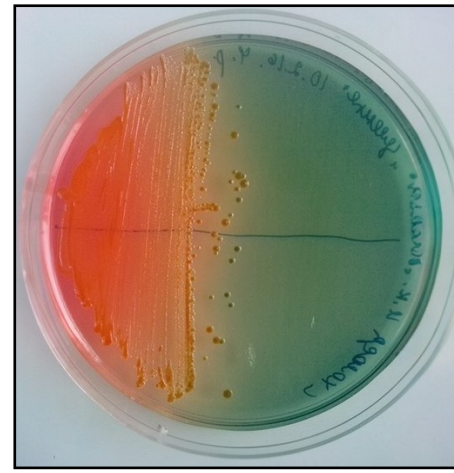


Рис. 31.2. *Положительная реакция чумного микроба на ферментацию глицерина. Обратите внимание, что единичные колонии имеют жёлтое окрашивание*

В начале этой книги (Глава 3) мы говорили, что штаммы, выделяемые в очагах, где основными носителями являются крысы (bv. orientalis)[1], не способны ферментировать глицерин[2], и что именно это легло в основу первой внутривидовой классификации чумного микроба, предложенной Анной Артемьевной Безсоновой. Тут следует сказать, что существуют штаммы, диссоциирующие по признаку ферментации глицерина, то есть формирующие коло-

[1] Чума, вызванная этими штаммами, некоторое время именовалась «городской».

[2] За способность ферментировать глицерин отвечает кодируемый геном *glpD* фермент глицерол-3-фосфат дегидрогеназа (GlpD). Делеция этого гена в рамке считывания размером 0,093 Кб (93 п. о.) приводит к удалению 31 аминокислоты в пределах N-концевой последовательности кодируемого фермента и, как следствие, утрате признака.

нии, как способные, так и не способные ферментировать глицерин (Рис. 31.3).

Вместе с тем ферментация глицерина не единственное биохимическое свойство, присущее подвидам чумного микроба и пред-

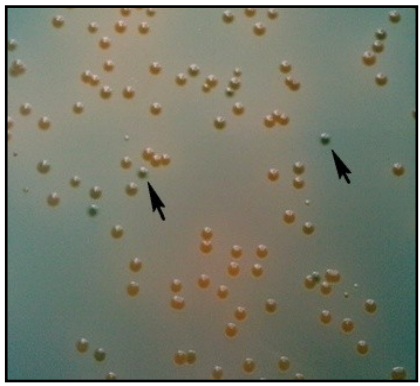


Рис. 31.3. *Диссоциация чумного микроба по отношению к ферментации глицерина (некоторые глицериннегативные колонии отмечены чёрными стрелками)*

ставляющее определённый интерес для внутривидовой дифференциации. Так, штаммы неосновных подвидов являются рамнозопозитивными (т. е. ферментирующими рамнозу; Rha^+), что связывается с экологической адаптацией бактерии к определённым видам носителей (полёвкам, монгольским пищухам)[1]. Напомним, что именно этот признак даёт ложноотрицательный результат на хромогенной питательной среде (относит к *Y. pseudotuberculosis*)[2]. Вместе с тем улегейские штаммы, циркулирующие в природных очагах Монголии, ферментируют рамнозу, только если в среде её содержится не менее 1%, при этом возможно спонтанное появление Rha^--мутантов (и наоборот). И поскольку способность ферментировать рамнозу напрямую связана со способностью ферментировать мелибиозу (Mel^+), это правило распространяется и на неё.

Кроме того, рамнозопозитивные «полёвочьи» штаммы, выделяемые в Горном Алтае и на Гиссарском хребте из полёвок (отсюда и название), ранее называемые «монгольскими», не способны ферментировать арабинозу (Ara^-), однако при длительном инкубиро-

[1] У «полёвочьих» штаммов, в отличие от «классических» Rha^--штаммов, как и штаммов *Y. pseudotuberculosis*, в гене *rhaS* имеется аденин (вместо гуанина) в положении 671 п. н.

[2] Наличие штаммов чумного микроба, сходных с псевдотуберкулёзным, привело к тому, что в 1964 году было предложено выделить самостоятельный подвид *semiplenus*, а в 1969 году – самостоятельный вид *Y. pestoides*, включающий подвиды *parvocaucasica, altaica* и *transbaicalica*!

вании (до месяца) около половины из них восстанавливает это свойство.

Принято считать, что все штаммы чумного микроба не способны ферментировать лактозу, однако благодаря наличию β-галактоидазы, находящейся обычно в неактивном состоянии, некотоые всё же способны ферментировать лактозу на 50-е сутки!

Исследование на способность *разжижать желатин* (протеолитическую активность) проводят с помощью желатиновой среды разлитой в пробирки «столбиком». Посев материала осуществляют проколом среды строго по центру, не доходя одного сантиметра до дна пробирки, после чего инкубируют 24-48 часов при комнатной температуре, наблюдая, при положительной реакции, разжижение среды по месту прокола. Если инкубировать посевы при 35°С (желатин при этой температуре становится жидким), то после охлаждения не произойдёт затвердевания.

Индольный тест используют для оценки способности бактерии расщеплять триптофан. Для постановки теста культуру инкубируют в бульоне или агаре, содержащем триптофан. Это могут быть пептон, панкреатический ферментативный гидролизат казеина, триптиказо-соевый агар и иные. В случае бульона культуру инкубируют 18–24 часов при 28°С, после чего 2 мл переносят в отдельную пробирку. Добавляют 5 капель реактива Ковача[1] или реактива Эрлиха[2] (в последнем случае предварительно добавляют 0,5 мл ксилена) и хорошо встряхивают пробирку.

При положительной реакции на границе реактива и бульона буквально на несколько секунд образуется кольцо ярко-красного цвета.

---

[1] Способ приготовления: растворяют 1 г *р*-диметиламинобензальдегида в 95 мл 95%-ного раствора этилового спирта и медленно под вытяжным шкафом добавляют 20 мл концентрированной соляной кислоты, постоянно помешивая. Готовый реагент имеет бледно-жёлтый цвет и при хранении при 2–8°С хранится год.

[2] Способ приготовления: растворяют 10 г *р*-диметиламинобензальдегида в 150 мл изобутилового или изоамилового спирта и медленно под вытяжным шкафом добавляют 50 мл концентрированной соляной кислоты, постоянно помешивая. Готовый реагент имеет бледно-жёлтый цвет и при хранении при 2–8°С хранится год.

В случае агара на новую чашку Петри кладут фильтровальную бумагу, смоченную реактивом Эрлиха или Ковача, на которую петлёй с агара переносится ночная культура.

При положительной реакции, после растирания культуры, на бумаге в течение 30 секунд появляется яркое розово-красное окрашивание[1].

Для исследования на ферментацию лактозы используют *ONPG-тест*. Ферментация лактозы осуществляется с помощью пермеазы, обеспечивающей перенос лактозы внутрь бактериальной клетки, и b-галактозидазы, осуществляющей расщепление лактозы на галактозу и глюкозу. О-нитрофенил-b-D-галактопиранозид (ONPG) сходен по структуре с лактозой, поэтому в присутствии b-галактозидазы расщепляется на галактозу и О-нитрофенил (компонент жёлтого цвета). В прогретый при 37°С на водяной бане, чтобы растворить образовавшиеся во время хранения раствора соли, ONPG-бульон добавляют густую бактериальную суспензию (цвета молока) и инкубируют при 28°С не менее часа (не более суток). При положительном результате появляется жёлтое окрашивание.

Сероводородный тест применяют для исследования способности бактерий ферментировать серосодержащие аминокислоты (цистин, цистеин и метионин) и некоторые неорганические соединения до серы, которая, взаимодействуя с водородом, и образует сероводород. Он, в свою очередь, способен реагировать с некоторыми солями железа и свинца, что и лежит в основе теста. Для постановки используют железосодержащие питательные среды (например, агар Олькени́цкого, агар Кли́глера) и индикаторные полоски с ацетатом свинца[2].

При положительной реакции среда окрашивается в чёрный цвет, а полоска, свободно свисающая над культурой[3], окрашивается

---

[1] Для данного метода нельзя использовать среды, содержащие индикатор (например, МакКонки, Эндо), поскольку их перенос на индикаторную бумагу может дать неопределённый результат.

[2] Приготавливается путём пропитывания полосок фильтровальной бумаги раствором, содержащим 30 г ацетата свинца и 1 г гидрокарбоната натрия, растворённых в 100 мл дистиллированной воды.

[3] Ацетат свинца крайне токсичен для роста бактерий, поэтому индикаторные полоски не должны касаться культуры. Для постановки теста полоски помещают в

в чёрно-коричневый цвет. Следует помнить, что ферментация сахарозы может подавлять продукцию сероводорода, поэтому среда Олькеницкого является менее чувствительной к сероводороду, чем среда Клигнера.

Вопрос о возможности образования сероводорода чумным микробом долгое время оставался открытым, поскольку, если инкубировать в мясопептонном бульоне, содержащем цистеин в концентрации 0,1–1%, реакция будет положительной. Вместе с тем в настоящее время принято считать, что чумной микроб сероводород не образует.

Уреазный тест применяют для исследования способности бактерии гидролизовать мочевину до аммиака и углекислого газа, то есть продуцировать уреазу. Для проведения теста производят посев культуры в агар Кри́стенсена с мочевиной или уреазный бульон Ру́стигана – Стю́арта и инкубируют при 28°С, учитывая результаты через 2, 4 и 24 часа. При положительной реакции вследствие сдвига pH в щелочную сторону среда окрашивается в красный цвет (при отрицательном результате цвет среды не меняется и наблюдение продолжают до четвёртого дня).

Данный тест является одним из основных, позволяющих дифференцировать *Y. pestis* от *Y. pseudotuberculosis*, поскольку чумной микроб (в отличие от псевдотуберкулёзного) не расщепляет мочевину[1]. Традиционно определяют уреазную активность по методу

пробирку со средой на расстоянии 2,5 см от культуры, закрепляя свободный конец полоски пробкой. Данный тест, хотя и сложен, примерно в 10 раз чувствительнее культурального.

[1] У некоторых штаммов уреаза выявляется при разрушении бактериальных клеток. Кроме того, иногда она определяется у свежевыделенных штаммов в период острой эпизоотии и утрачивается при затухании, а также при хранении культур без дополнительной селекции на питательных средах. Причина этого явления, вероятно, кроется в том, что в гене *ureD* чумного микроба содержится вставка добавочного гуанинового остатка в поли-G-участке, что приводит к образованию стоп-кодона, который и препятствует синтезу уреазы. Однако иногда может происходить делеция (т. е. потеря в результате хромосомной перестройки) этого добавочного («лишнего») нуклеотида, что приводит к нормальной «работе» гена *ureD* и, как следствие, синтезу уреазы.

Галины Николаевны Ленской[1]. К 100 мл физиологического раствора добавляют 2%-ную кристаллическую мочевину и 1%-ный спиртовой раствор фенолфталеина. Раствор доводится до кипения, но не кипятится во избежание снижения интенсивности реакции, после чего разливается по 4 мл в пробирки. Достаточное количество (примерно 10^9 м.к./мл) двух- или трёхсуточной культуры, выращенной при 28°С, вносят петлёй (наносят на стенку у самой кромки раствора и круговыми движениями аккуратно «смывают» в раствор). При положительной реакции вследствие сдвига pH в щелочную сторону раствор окрасится в малиново-розовый цвет.

Вместе с тем на практике этот метод почти не используется из-за возможности спонтанного сдвига pH и, как следствие, получения ложноположительных результатов (даже при аккуратном внесении культуры чумного микроба можно видеть, как раствор розовеет на доли секунды). Поэтому используют посевы на агар Кристенсена с мочевиной или уреазный бульон Рустигана – Стюарта, а также цветную дифференциальную среду, поскольку уже через сутки инкубации при 28°С, в случае чумного микроба, среда изменяет окраску с тёмно-зелёной на красно-оранжевую в случае «столбика» и сине-зелёную – в случае «косяка». Происходит это из-за полной или частичной ферментации содержащейся в среде глюкозы в анаэробных («столбик») и аэробных («косяк») условиях. В случае псевдотуберкулёзного микроба среда приобретёт синюю окраску за счёт расщепления мочевины.

Тест Фогес – Проскауэра, предложенный[2] в 1898 году Даниэлем Фогесом[3] и Бернгардом Проскауэром[4], основан на выявлении ацетоина (ацетил-метилкарбинола), являющегося промежуточным продуктом расщепления глюкозы в пиовиноградную кислоту. Для проведения теста производят посев культуры в 5 мл бульона Клар-

[1] 1904–1983; советский (российский) врач, бактериолог. Лауреат Государственной премии СССР II степени (1952). Автор работ по изменчивости чумного микроба, участник ликвидаций вспышек особо опасных инфекций.

[2] Voges O., Proskauer B. *Beitrag zur Ernährungspysiologie und zur Differentialdiagnose der Bakterien der hämorrhagischen Septicämie*. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. 1898; 28:20–32; DOI: 10.1007/BF02285362.

[3] Daniel Wilhelm Otto Voges, 1867–1911; германский врач, бактериолог.

[4] Bernhard Proskauer, 1851–1915; германский химик. Автор работ по гигиене воды и дезинфекции.

ка и инкубируют при 28°С не менее 48 часов. Переносят 2,5 мл бульонной культуры в отдельную пробирку, последовательно добавляют 0,3 мл реагента I[1] и 0,1 мл реагента II[2]. Осторожно встряхивают пробирку и оставляют на 10–15 минут, после чего учитывают результат: красное (оттенки розового) окрашивание – положительный результат, отсутствие окрашивания – отрицательный.

Тесты на *нитрификацию* и *денитрификацию* позволяют выявить способность бактерий преобразовывать соединения азота, а именно *окислять аммиак* (нитрификация) до нитратов, а также продуцировать нитратредуктазу, благодаря которой нитриты редуцируются в нитраты (и далее до азота). Для постановки теста в 1 мл бульона Хоттингера или Мартена добавляют 0,5 мл реактива Грисса[3] для проверки на отсутствие нитратов (бульон не должен поменять цвет). В другие две пробирки с 1 мл данного бульона вносится суточная агаровая культура, причём в одну из них добавляют 0,1%-ный раствор KNO_3. Обе пробирки инкубируются при температуре 28°С, и через трое суток в них добавляют по 0,5 мл реактива Грисса. При положительной реакции сразу появляется окрашивание от розового до малинового цвета, что свидетельствует о наличии в среде нитритов: в первой пробирке (без KNO_3) за счёт окисления аммиака (нитрификация), а во второй (с KNO_3) – в процессе редукции нитратов (денитрификация).

Нитрифицирующую активность проявляют лишь некоторые штаммы биоваров antiqua и orientalis. Денитрифицирующую активность проявляют все штаммы чумного микроба, за исключением биоваров medievalis и microtus (xilingolensis и qinghaiensis), алтайских, гиссарских, таласских и улегейских штаммов. Связано это

---

[1] Способ приготовления: растворяют 5 г α-нафтола в 100 мл этилового спирта (раствор почти бесцветный, сохраняет стабильность год при хранении в тёмной посуде при 2–8°С).

[2] Способ приготовленя: к 40 г гидроксида калия добавляют 100 мл воды на холодной бане во избежание перегрева (раствор сохраняет стабильность год при хранении в стеклянных бутылях, покрытых парафином или полиэтиленом, при комнатной температуре).

[3] Предложен в 1858 году германским химиком Иога́ннном Пе́тером Гри́ссом (1829–1888). Способ приготовления: 0,1 г α-нафтиламина растворяют в 100 мл дистиллированной воды при кипячении в течение 15 минут, после чего охлаждают. Затем добавляют 5 мл ледяной уксусной кислоты и 100 мл 1%-ной сульфаниловой кислоты. Смесь хранится в непрозрачной таре.

с мутацией в гене *napA*, в котором в 205 позиции вместо триплета GAA расположен триплет TAA, что препятствует синтезу единственной нитратредуктазы чумного микроба Nap[1]. Напомним, что нитрифицирующая и денитрифицирующая активности, наряду со способностью ферментировать глицерин, положены в основу классификации Рене Девинья.

Наличие *гемолитической активности* (т. е. способность разрушать эритроциты) у чумного микроба долгое время являлось предметом дискуссии, поскольку было накоплено много противоречивых данных. Точка в этом вопросе была поставлена в 1963 году В. В. Ткаче́нко[2]. Его опыты[3] показали, что гемолиз вызывают далеко не все штаммы, причём при 37°С он наступает быстрее, чем при 28°С. Сам гемолизмин по своим свойствам не похож на известные гемолизины, являющиеся протеазами (α-гемолизин стафилококка) или лецитиназами (α-токсин *Clostridium perfringens*). Он термостабилен (сохраняет активность даже при 4°С) и по физико-химическим показателям близок к высшим жирным кислотам (липидам), которые могут высвобождаться при разрушении бактерии[4].

Для постановки теста в пробирку с трёхсуточной бульонной культурой добавляют 0,1 мл дефибринированной крови и инкубируют сутки при 37°С. При положительной реакции среда обесцветится (Рис. 31.4). Следует помнить, что наиболее чувствительными к гемолизину являются эритроциты собаки. Затем, в порядке снижe-

[1] Следует отметить, что существуют также атипичные «полёвочьи» штаммы, у которых имеет место замена триплета GCC на триплет ACC в 341 позиции, что ведёт к замене гидрофобного аланина на гидрофильный треонин, ввиду чего Nap теряет свою активность.

[2] Советский врач, бактериолог. К сожалению, в настоящее время известны только его инициалы, дошедшие до нас в виде нескольких печатных работ и упоминаний в научной литературе.

[3] Ткаченко В. В. *О химической природе чумного гемолизина*, Дис. … кандидата медицинских наук. Ростов-на-Дону, 1964, 115 с.

[4] Это объясняет отсутствие связи чумного гемолизина с водорастворимыми фракциями (например, мышиным токсином) и сохранение гемолитической активности после отмывки культуры. Следует отметить, что хотя липиды *Y. pseudotuberculosis* также обладают гемолитической активностью, после отмывки бактерия теряет это свойство.

ния, идут эритроциты лошади, кролика, голубя, крысы, морской свинки и человека, лизис которых происходит не ранее 72 часов инкубации. Эритроциты барана и верблюда наиболее устойчивы, хотя чувствительность эритроцитов различных животных во многом зависит от состава питательной среды.

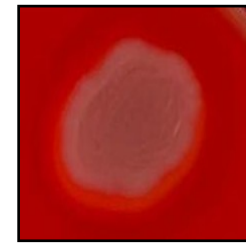


Рис. 31.4. *Тест на гемолитическую активность, который на практике чаще всего проводят на кровяном агаре. Можно видеть хорошую зону гемолиза (в виде просветления среды)*

Вопреки всему вышесказанному, патологоанатомические исследования обнаруживают большое количество разрушенных эритроцитов внутри и вне сосудов, особенно в печени и селезёнке. Как такое возможно, если гемолитическая активность чумного микроба невелика? По мнению Игоря Валериановича Домарадского, гемолиз при чуме «возникает вне зависимости от гемолитических свойств возбудителя чумы под влиянием появляющихся в больном организме эндогенных гемолитических факторов». Однако данный вопрос вплоть до настоящего времени остаётся открытым.

Результаты приведённых тестов для чумного микроба, этакое своеобразное «меню», приведены в Табл. 31.1 и 31.2.

Альтернативой их служат коммерческие системы индикаторных бумаг (СИБы), панели биохимической идентификации и системы автоматизированной идентификации. Первые представляют собой бумажные диски, пропитанные средами с индикатором, а вторые и третьи – панели с лунками, содержащими высушенные среды с индикаторами. Принцип действия схож: диски раскладывают по пробиркам и заливают суспензией исследуемой культуры, а в лунки сразу заливают суспензию культуры и всё инкубируют, после чего учитывают результаты (в последней системе учёт осуществляется компьютером). Важно понимать, что качество результата зависит от добросовестности производителя. С другой стороны, иногда результаты биохимических тестов не совпадают с информацией, представленной в книге, поскольку каждый существующий штамм индивидуален.

Табл. 31.1. Биохимические тесты для Y. pestis

Тест	**Результат**
Глюкоза	+
Лактоза	+
Глицерин	+ (кроме bv. orientalis)
Салицин	±
Мочевина	– (кроме bv. talassica; ± bv. orientalis, гиссарские штаммы)
Рамноза	+ (кроме основного подвида)
Мелибиоза	+ (кроме основного подвида; ± bv. medievalis; ? angola)
Сахароза	–
Маннит	+
Мальтоза	+
Арабиноза	+ (кроме bv. microtus, алтайских и гиссарских штаммов)
H_2S	не образует
Индол	не образует
Реакция Фогес – Проскауэра	не протекает
Среда Олькеницкого	оранжевый цвет
Нитрификация	не протекает (кроме ± bv. antiqua, orientalis)
Денитрификация	протекает (кроме bv. medievalis, microtus, алтайских, гиссарских, таласских и улегейских штаммов)
Желатин	не разжижает
Молоко	не свёртывает
Подвижность	отсутствует
Примечание: «+»– расщепление; «±»– возможны варианты расщепления; «–»– отсутствие расщепления; ? – данные отсутствуют	

Табл. 31.2. Биохимические тесты для Y. pseudotuberculosis и Y. enterocolitica

Тест	Результат	
	Y. pseudotuberculosis	***Y. enterocolitica***
Глюкоза	+	+
Лактоза	+	+
Сахароза	–	+ (у 5 биовара только у 26–75% штаммов)
Рамноза	+	–
Глицерин	+	+
Сорбит	–	+ (кроме 5 биовара)
Маннит	+	+
Мочевина	+	+
Индол	не образует	большинство культур не образуют
Сероводород	не образует	
Образование нитритов	+	+
Подвижность	присутствует при <37°С	
Реакция Фогес – Проскауэра (при 22–25°С)	отсутствует	присутствует

Далее поговорим о дополнительных исследованиях, проводимых для окончательной идентификации чумного микроба и дифференциации его подвидов (Табл. 31.4).

Определение чувствительности к пестицину проводят методом отсроченного антагонизма. На поверхность 1,5%-ного агара Хоттингера в центре чашки с помощью петли бляшкой наносят суточную культуру штамма *Y. pestis*, продуцирующего пестицин (т. е. имеющего плазмиду pPla) и инкубируют при температуре 28°С в течение 48–72 часов. На крышку чашки (напомним: чашка размещается крышкой вниз) кладут фильтровальную бумагу или тампон, смоченные хлороформом, для стерилизации культуры. Через час-два тампоны удаляют и просушивают чашку, приоткрыв крышку (хотя культура и стерилизованная, технику работ с ПБА лучше не нару-

шать), до полного исчезновения запаха хлороформа. Затем на поверхность агара наносится (выливается) 4,5 мл 0,7%-ного агара, расплавленного и остуженного до температуры 40–47°С, и содержащего 0,5 мл четырёхчасовой бульонной культуры исследуемого штамма. Посевы инкубируют при температуре 28°С. При положительном результате, если исследуемый штамм проявляет чувствительность к пестицину, в центре чашки (вокруг колоний штамма-продуцента) будет наблюдаться задержка роста культуры.

Определение пестициногенности (способности синтезировать пестицин) проводят обратным методом. На поверхность 1,5%-ного агара Хоттингера в центре чашки с помощью петли бляшкой наносят культуру исследуемого штамма и инкубируют при температуре 28°С в течение 48–72 часов. На крышку чашки кладут фильтровальную бумагу или тампон, смоченные хлороформом, для стерилизации культуры. Через час-два тампоны удаляют и просушивают чашку, после чего на поверхность агара наносится (выливается) 4,5 мл 0,7%-ного агара, расплавленного и остуженного до температуры 40–47°С, и содержащего 0,5 мл четырёхчасовой бульонной культуры чувствительного к пестицину штамма. Посевы инкубируют при температуре 28°С. При положительном результате, если исследуемый штамм проявляет пестициногенность, в центре чашки (вокруг колоний штамма-продуцента) будет наблюдаться задержка роста культуры.

Определение плазмокоагулазной активности. В 0,5 мл плазмы крови[1] вносят одну петлю суточной (реже двухсуточной) культуры. В качестве положительного контроля используют штамм *Y. pestis*, содержащий плазмиду pPla (например, штамм *Y. pestis* EV), а в качестве отрицательного контроля – чистую плазму. Посевы и контроли инкубируют при температуре 28°С.

Учёт результатов проводят через каждый час, начиная с положительного контрольного образца (отрицательный контрольный образец должен оставаться жидким). Как правило, сгусток крови

[1] Используют цитратную кроличью плазму; допускается использование очищенного препарата фибриногена, растворённого в физиологическом растворе до концентрации 10 мг/мл. Следует отметить, что рядом специалистов рекомендовано использование цельной нативной человеческой плазмы крови, однако в ряде стран это запрещено законом о донорстве крови и её компонентов.

образуется уже через 1–2 часа, однако наблюдения продолжают в течение 24 часов (в случае использования препарата фибриногена – в течение 48 часов), за которые сгусток должен образоваться и начать уменьшаться в размерах вследствие фибринолиза. Оценку результатов проводят по системе четырёх крестов:

4+	++++	образование плотного сгустка, заполняющего всю пробирку и с трудом отделяющегося от её стенок
3+	+++	образование довольно плотного сгустка, легко отделяющегося от стенок пробирки, и небольшого количества жидкой плазмы
2+	++	образование хорошо сформированного сгустка и небольшого количества жидкой плазмы
1+	+	образование небольшого сгустка, плавающего в плазме
	±	образование еле заметной плёнки на поверхности плазмы
	–	наличие только жидкой плазмы в пробирке

Положительная реакция наблюдается, как правило, у всех штаммов, за исключением кавказских.

Определение фибринолитической активности. В плазму крови вносится физиологический раствор до концентрации 1:8 (реже 1:10[1]) и разливается в пробирки по 0,5 мл. Затем готовится взвесь суточной культуры, содержащей 1 х 10^9 м.к./мл (т. е. микробных клеток в мл), для чего её петлёй вносят в пробирку с физиологическим раствором (наносят на стенку у самой кромки раствора и круговыми движениями аккуратно «смывают» в раствор). Для получения заданной концентрации целесообразнее внести одну-две петли в небольшое количество физиологического раствора, после чего развести полученную концентрированную взвесь физиологическим раствором. Контроль концентрации осуществляют путём сравнения

[1] Выбор разведения осуществляется путём постановки исследования с контрольным штаммом (например, *Y. pestis* EV), при котором образующийся сгусток фибрина будет полностью растворяться к 18–20 часу.

полученного раствора со *стандартом мутности МакФа́рланда*[1] или *отраслевого стандартного образца (ОСО)*[2], калиброванного в соответствии с Международным стандартом мутности образцов[3]. В пробирку с плазмой вносится 0,25 мл полученной взвеси, после чего перемешивается и добавляется 0,1 мл 0,5%-ного раствора хлорида кальция. В качестве положительного контроля используют штамм *Y. pestis*, содержащий плазмиду pPla (например, штамм *Y. pestis* EV), а в качестве отрицательного контроля – чистую плазму с растворами хлорида кальция (0,25 мл 0,9%-ного раствора и 0,1 мл 0,5%-ного раствора). Посевы и контроли инкубируются при 37°С.

Через 40–60 минут проверяется образование сгустка (если он не образовался, то исследование повторяют), а учёт результатов проводят через 18–20 часов. Оценку результатов проводят по системе четырёх крестов:

4+	++++	наблюдается полное растворение сгустка фибрина
3+	+++	наблюдается почти полное растворение сгустка фибрина, за исключением плёнки на поверхности
2+	++	наблюдается небольшой сгусток фибрина, плавающий в большом количестве плазмы
1+	+	наблюдается большой сгусток фибрина в небольшом количестве плазмы
	–	наблюдается только сгусток фибрина (без жидкой плазмы)

[1] Предложен в 1907 году Джозефом МакФарландом и готовится путём смешения 1%-ного раствора серной кислоты с 1,175%-ным раствором дигидрата хлорида бария, в результате чего образуется сульфат бария (см. McFarland J. *The nephelometer: an instrument for estimating the numbers of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines*. J Am Med Assoc. 1097; 49:1176–1178).

[2] Представляет собой взвешенные в дистиллированной воде частицы боросиликатного стекла (Pyrex®) диаметром 0,5–3,5 мкм. Стандарты выпускаются плотностью 5 МЕ и 10 МЕ, что для чумного микроба соответствует концентрациям 4,75 х 10^6 и 0,95 х 10^9 м.к./мл соответственно.

[3] *5th International reference preparation of opacity*, WHO International Standard, NIBSC code 76/522, Version 6.0 (2013), 2 p.

Если необходимо дать *количественную оценку* фибринолитической активности, то данное исследование проводят со взвесями 1×10^9, 1×10^8, 1×10^7 и так далее. Для получения взвесей 0,5 мл исходной взвести (1×10^9 м.к./мл) вносят в пробирку с 4,5 мл физиологического раствора, получая таким образом первое разведение (10^{-1}), которое содержит 1×10^8 м.к./мл[1]. Затем 0,5 мл раствора из пробирки с первым разведением вносят в пробирку с 4,5 мл физиологического раствора, то есть получают второе разведение (10^{-2}), содержащее 1×10^7 м.к./мл. Продолжая описанные манипуляции, получают необходимые разведения и концентрации. Данный процесс именуется *титрованием бактериальной культуры*.

Схема метода приведена в Табл. 31.3. «Читают» её сверху вниз по строчкам (до двойной сплошной линии, после которой даны пояснения по концентрациям). Стрелка «→» указывает на перенос указанного над ней объёма (в данном случае 0,5 мл) в следующую пробирку, стрелка «↑» – на удаление указанного рядом с ней объёма (в данном случае 0,1 мл) из пробирки на чашку. Цифра без стрелки обозначает вносимый объём.

Табл. 31.3. Схема титрования для количественной оценки фибринолитической активности

Пробирки / Реактивы	1	2	3	4	5	…	9
Физиологический раствор, мл	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	…	4,5
Культура, мл	$0{,}5\overset{0,5}{\rightarrow}$	$\overset{0,5}{\rightarrow}$	$\overset{0,5}{\rightarrow}$	$\overset{0,5}{\rightarrow}$	$\overset{0,5}{\rightarrow}$	…	↑0,1
Взвесь, м. к. мл	10^9	10^8	10^7	10^6	10^5	…	10^1
Разведение	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	…	10^{-9}

Определение признака пигментсорбции, то есть способности бактерией сорбировать кислые красители и гемин, позволяет определить наличие важного фактора вирулентности – хромосомную область пигементации. Проводят исследование на среде Джексона –

[1] Возможно внесение 1 мл исходной взвеси в 9 мл физиологического раствора.

Берроуза с гемином. На поверхность среды пипеткой наносят 0,1 мл взвеси суточной культуры в физиологическом растворе, содержащей 5 х 10^3 м. к./мл, и равномерно распределяют шпателем по поверхности агара. В качестве отрицательного контроля используют *pgm*⁻ штаммы (например, штамм *Y. pestis* EV). Посевы инкубируют 5–10 суток при 28°С.

Вирулентные штаммы (*pgm*⁺), как правило, вырастают в виде небольших чёрно-бурых колоний, а авирулентные штаммы (*pgm*⁻) – в виде крупных бесцветных колоний.

Признак пигментсорбции возможно выявить и на агаре Хоттингера. Для этого к агару следует добавить 0,05 мг/мл красителя конго красного, после чего нанести 0,1 мл взвеси суточной культуры в физиологическом растворе, содержащей 5 х 10^3 м.к./мл, равномерно распределить по поверхности агара шпателем и инкубировать 1–2 суток при 28°С и 2–3 суток при 4°С.

Вирулентные штаммы (*pgm*⁺) вырастают в виде красных колоний, а авирулентные штаммы (*pgm*⁻) – в виде бесцветных колоний.

Следует помнить, что штаммы *Y. pseudotuberculosis* O1 серотипа также обладают признаком пигментсорбции, а сравнение нуклеотидных последовательностей *hms*-оперона двух видов показало[1], что хотя эволюционный процесс и сопровождался единичными нуклеотидными заменами во всех генах оперона, практически все они образовали лишь кодоны синонимы. Так, замена в 603 позиции гуанина на аденин (G→A) в гене *hmsH* привела к изменению триплета AC**G** у *Y. pseudotuberculosis* на триплет AC**A** у *Y. pestis*, но не повлияла на синтез аминокислоты (треонина). Даже замена G→A в позиции 612 (GA$\mathbf{C}_{612}$/GA$\mathbf{A}_{612}$) в том же гене привела только к замене одной отрицательно заряженной аминокислоты (изолейцина) на другую (валин). Тем не менее признак пигментсорбции можно использовать для дифференциальной диагностики. Для этого чумной микроб выращивают на среде HmsD (от англ. **hem**in-**s**torage phenotype **d**ifferentiation), а псевдотуберкулёзный – на среде $HmsD_{pstbc}$ (при 15°С).

---

[1] Булгакова Е. Г., Краснов Я. М., и др.*Особенности проявления признака пигментации и структурные различия генов hms-оперона у штаммов Y. pestis и Y. pseudotuberculosis разного происхождения.* Проблемы особо опасных инфекций. 2011; 2:30–35.

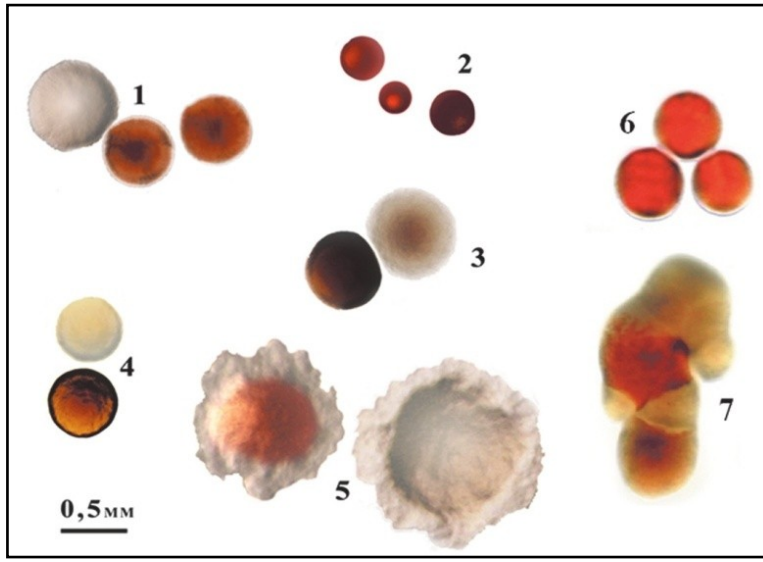


Рис. 31.5. *Колонии чумного и псевдотуберкулёзного микробов на средах HmsD и HmsDpstbc (по Е. Г. Булгакова, 2011):*
1 – алтайский и улегейский штамм; 2 – кавказский штамм;
3 – таласский штамм; 4 – гиссарский штамм; 5 – штамм основного подвида (так называемая «яичница»); 6 – штамм Y. pseudotuberculosis 338Д (O1 серотип), 7 – штамм Y. pseudotuberculosis A17 (O1 серопит)

Штаммы основного подвида чумного микроба (5) образуют зернистые колонии, интенсивно окрашенные, с волнистым бесцветным краем, тогда как алтайские (1), гиссарские (4), таласские (3) и улегейские (1) штаммы образуют рыхлые, менее окрашенные, почти розовые колонии. Кавказские штаммы (2) образуют наиболее плотные, с ровным краем и ярко окрашенные колонии. Штаммы псевдотуберкулёзного микроба (6 и 7) образуют гладкие колонии, чуть менее интенсивно окрашенные, а также колонии смешанного типа, имеющие как пигментированные, так и непигментированные сегменты (Рис. 31.5).

Зависимость роста от ионов кальция исследуют на агаре Хигучи – Смита. Из выращенной в течение 18–24 часов при 28°С культуры готовят взвеси в физиологическом растворе, содержащие 1 х 10^3, 1 х 10^4 и 5 х 10^5 м. к./мл, которые по 0,1 мл высевают на чашки с агаром.

Посевы инкубируют 48 часов при 37°С и проводят подсчёт колоний (авирулентных кальцийнезависимых). Далее инкубируют 24 часа при 28 °С и проводят подсчёт новых колоний (вирулентных кальцийзависимых)[1].

В качестве контролей используют культуры, содержащие и не содержащий плазмиду pCad, посеянные такими же взвесями по 0,1 мл на агар Хоттингера, содержащий 5 % крови.

Табл. 31.4. Дифференциальные тесты для Y. pestis и Y. pseudotuberculosis 01

Признак	***Y. pestis* subsp. *pestis***	**Кавказские штаммы**	***Y. pseudotuberculosis o1***
Продукция пестицина	+	–	–
Чувствительность к пестицину	–	+	+
Фибринолитическая активность	+	–	–
Плазмакоагулазная активность	+	–	–

32 ИСТОРИЯ ОДНОЙ ОБИДЫ

Бельгия, 1921 год. В обширном зале проходит очередное заседание Биологического общества, собравшее большое количество учёных мужей и зрителей, среди которых можно видеть уже известного нам человека, пристально наблюдающего за яростным спором

[1] В случае инкубации посевов 71 час при 37°С, вырастают колонии трёх типов: крупные (2–2,5 мм), средние (1,5–2 мм) и очень мелкие (менее 1 мм). Крупные и средние колонии сформированы кальцийнезависимыми клетками.

Жю́ля Борде́[1] и Ришáра Брюино́га[2]. Каждый из них вместе со своей группой старается доказать оппоненту, что именно его понимание сущности бактериофага – истина. Для первого бактериофаг не более чем нормальная функция бактерий, связанная с мутациями, тогда как для второго это вирус! Чтобы понять точку зрения Жюля Борде, нужно помнить, что он занимался исключительно вопросами иммунитета и даже не думал о бактериофагах. Однако после того как Феликс д'Эрелль, разочарованный в неэффективности вакцин, применяемых во время Первой мировой войны (вероятно из-за спешки страдал контроль), обрушился с критикой на иммунологию и лично Жюля Борде, последний приложил все усилия для того, чтобы доказать несостоятельность идей д'Эрелля.

Но вернёмся на собрание. В этот раз одним из оппонентов Жюля Борде стал Рене́ Аппельма́н, предложивший[3] *метод предельных разведений*, который показывает, что при внесении одинакового количества бактерий в пробирки с последовательными разведениями бактериофага, лизис наблюдается лишь в части пробирок, что свидетельствует в пользу существования бактериофага как частицы – вируса.

Метод Аппельмана позволяет узнать титр бактериофага, вызывающий полный лизис бульонной культуры. Для этого в десять пробирок разливают по 4,5 мл бульона (одну подписывают как «контроль», а остальные номеруют от 1 до 9). В первую пробирку вносят 0,5 мл бактериофага, тщательно перемешивают и переносят 0,5 мл во вторую, и так продолжают до девятой пробирки, которая соответствует девятому разведению (можно видеть, что данный процесс аналогичен титрованию бактериальной культуры). В отдельной пробирке готовят суспензию бактериальной культуры (примерно 10^9 м. к./мл) и вносят по 0,05 мл (одна капля) во все десять пробирок. Инкубируют посевы в случае чумного микроба при 28°С, периодически просматривая и фиксируя прозрачность в пробирках с разведениями бактериофага относительно контроля. Пробирка с тем разведением бактериофага, которая предшествует раз-

[1] Jules Jean-Baptiste Vincent Bordet, 1870–1961; бельгийский врач, бактериолог, иммунолог. Лауреат Нобелевской премии по медицине или физиологии (1919).

[2] Richard Bruynoghe, 1881–1957; бельгийский врач, бактериолог.

[3] Appelmans R. *Le dosage du bactériophage.* Compt Rend Soc Biol. 1921; 85:701.

ведению, в котором обнаруживается рост культуры (т. е. последняя «чистая»), и является искомым титром (его называют *титр по Аппельману*).

Разновидностью этого метода является *метод диагностических рабочих разведений*. Дно чашки Петри с 1,5–2%-ным агаром расчерчивается для удобства на 8 секторов (можно взять несколько чашек Петри, разделённых на меньшее количество секторов). В пробирку с 4,5 мл 0,7%-ного агара, предварительного расплавленного и остуженного до температуры 47°С, вносится 0,2 мл культуры, инкубированной 18–20 часов при температуре 28°С, перемешивается и выливается на чашку Петри[1]. Данная манипуляция представляет большую опасность, поэтому перед открытием пробирки её проверяют на целостность. Если расплавление агара осуществлялось на водной бане, то пробирку следует обтереть. Далее полужидкий агар перемешивают в пробирке, производя медленные круговые движения, вынимают пробку, при этом напарник приоткрывает крышку чашки. Пробирку подносят максимально близко к агару, чтобы избежать разбрызгивания, и полужидкий агар осторожно выливают на его поверхность, после чего напарник закрывает чашку крышкой, оставляя небольшое отверстие для подсушивания. Сотрудник, выливавший агар, аккуратно вставляет пробку в пробирку, предварительно подобрав ею капли агара, которые могли остаться на краю пробирки, после чего закрытая пробирка отдаётся на автоклавирование[2]. Затем на каждый сектор застывшего и хорошо подсохшего агара вносится по 0,05 мл (одна капля) бактериофага цельного и в разведениях (от 10^{-1} до 10^{-7}). Допустимо вносить бактериофаг с помощью петли диаметром 2 мм, каждый раз её обжигая. При этом следует следить, чтобы на петле не оставалось жидкости, поскольку при обжиге она может разбрызгаться. Далее чашкам дают подсохнуть и, перевернув, инкубируют сутки при 28°С. Как и в случае титра по Аппельману, последний сектор, на котором обнаруживается пятно лизиса, и является искомым диагностическим рабочим титром (ДТР).

---

[1] Некоторые специалисты вместо этого вносят 0,1 мл культуры на поверхность агара и тщательно растирают её шпателем.

[2] При транспортировке пробирки следует накрыть салфеткой, смоченной раствором дезинфектанта, а автоклавирование провести в тот же день.

Иной метод был предложен Андре́ Гра́ция[1], который на момент заседания Биологического общества являлся сторонником Жюля Борде, но впоследствии убедился в правоте воззрений Ришара Брюинога. Его метод заключается в том, что в пробирки с 4,5 мл бульона вносят по 0,5 мл разведения бактериофага (как правило, от 10^{-1} до 10^{-7}) и 0,05 мл (одна капля) бактериальной культуры (примерно 10^9 м. к./мл), после чего выливают на пластинки с 1,5%-ным агаром Хоттингера, подсушивают и инкубируют при 28°С. В результате на сплошном бактериальном газоне появляются стерильные пятна, называемые *негативными колониями бактериофага* (Рис. 32.1). Их число соответствует количеству фаговых частиц.

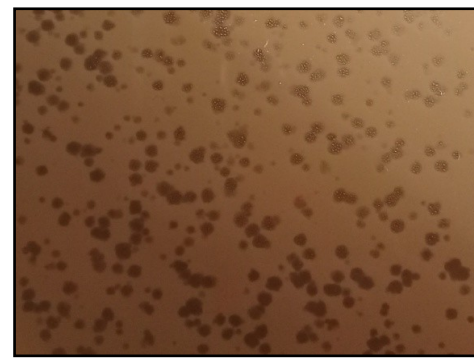


Рис. 32.1. *Негативные колонии бактериофага (второе разведение)*

Далее, умножив их количество на 10 в степени разведения, получим количество частиц бактериофага в 1 мл. Например, если обнаружено 20 негативных колоний из восьмого разделения, то частиц бактериофага 2×10^9 на 1 мл (20×10^8/мл)[2].

Наряду с количественными методами, позволяющими определить концентрацию бактериофага, необходимую для лизиса культуры, применяют качественные, который позволяют ответить на вопрос, лизируется ли культура данным бактериофагом. Поэтому в вопросах диагностики, когда важно выдать результат как можно быстрее, определение чувствительности культуры к бактериофагам начинают с качественных методов.

---

[1] André Gratia, 1893–1950; бельгийский врач, бактериолог. Первый исследователь бактериофагов в США.

[2] Для точности подсчёт ведут на нескольких чашках, вычисляя результат как среднее арифметическое. Если на чашке много негативных колоний, то её можно разделить на сектора, посчитать количество негативных колоний в секторе и умножить на количество секторов.



Рис. 32.2. *Зона лизиса на чашке со «сплошным газоном» штамма Y. pestis 1706*

В частности, 0,1 *мл* бактериальной культуры (примерно 10^9 м. к./*мл*), выращенной 18 часов на агаре при 28°С, вносят в пробирку с 4,5 *мл* 0,7%-ного агара, предварительно расплавленного и остуженного до температуры 47°С. Затем равномерно размешивают, выливают на пластину с 1,5%-ным агаром Хоттингера и подсушивают. Наносят по 0,05 *мл* (одна капля) бактериофагов на сектора и инкубируют при 28°С. Предварительный учёт результатов (*наличие лизиса* в месте нанесения бактериофага) осуществляют через 12 часов, а окончательный – через 24 часа (Рис. 32.2).

Существует также ускоренный метод, согласно которому на первую чашку со средой Туманского наносят по 0,05 *мл* (одна капля) исследуемой культуры и бактериофага, растирая их шпателем по поверхности. На вторую чашку со средой Туманского засевают исследуемый материал, а у самого края чашки наносят одну каплю (0,05 *мл*) бактериофага, давая ей стечь до другого края, образовав «дорожку». Каплю бактериофага следует наносить на хорошо подсушенный агар пастеровской пипеткой (касаясь концом агара) или петлёй, чтобы исключить разбрызгивания. Наконец, на третью чашку со средой Туманского засевают только исследуемый материал. Все чашки инкубируют сутки при 28°С. При положительном результате на первой чашке обнаруживаются стерильные пятна, на второй – стерильная «дорожка» (в месте нанесения бактериофага), и на третьей – бактериальные колонии (контроль).

В диагностических целях используются различные литические бактериофаги, активные в отношении чумного микроба. Чаще всего они осуществляют связывание с некоторым участком кора *Л*ПС (Табл. 32.1, Рис. 32.3). В России и странах бывшего СССР применяют бактериофаг Покровской, выделенный[1] Магдаленой Петровной

[1] Покровская М. П. *Бактериофаг и его практическое применение для лечения и профилактики летних детских поносов, дизентерии и хирургических инфекций*. Пятигорск: Крайведиздат, 1940.

Покровской в 1929 году из тканей, заражённых чумой сусликов рода *Spermophilus* и относящийся к серовару 1 (семейство *Podoviridae*), а также бактериофаг *Л*-413С (вирулентный мутант умеренного бактериофага *Л*-413), относящийся к серовару 2 (семейство *Myoviridae*). Бактериофаг Покровской является близкородственным колифагу Т7 (активен в отношении *Escherichia coli*), менее специфичен, и в зависимости от разведения лизирует 92,5–98,5% культур *Y. pestis* и 6,1–19% культур *Y. pseudotuberculosis*. Поэтому его применяют только, когда подозрительная культура не лизируется бактериофагом *Л*-413С и в параллели с псевдотуберкулёзным бактериофагом. Положительный результат в этой ситуации регистрируется только в случае лизирования культуры диагностическим рабочим титром и выше, то есть лизируется меньшей концентрацией бактериофага (вот тут в игру вступают количественные методы)[1].

В США применяют бактериофаг φA1122, выделенный[2] в 1933 году из крови больного бубонной чумой и относящийся к серовару 1 (семейство *Podoviridae*). Интересно, что данный бактериофаг, как и бактериофаг Покровской, является близкородственным колифагу Т7. Лизирует культуры чумного микроба при 20 и 37°С, а также культуры *Y. pseudotuberculosis* при температурах выше 28°С. Кроме того, применяют бактериофаг Р, выделенный[3] в 1951 году и бактериофаг Н, выделенный[4] в 1953 году из сточных вод Калифорнийского университета в Беркли, который лизирует культуры чумного микроба при 20°С. Интересно, что оба бактериофага относятся к серовару 1 (семейство *Podoviridae*) и способны лизировать *Escherichia coli*, как и бактериофаг Y, выделенный[5] в 1964 году в Израиле

[1] Если лизис происходит в разведении ниже ДРТ (т. е. большей концентрацией бактериофага), то переходят к иным диагностическим методам.

[2] Advier M. *Etude d'un bactériophage antipesteux*. Bull Soc Pathol Exotiques. 1933; 26:94–99.

[3] Gunnison J. B., Larson A., et al. *Rapid differentiation between Pasteurella pestis and Pasteurella pseudotuberculosis by action of bacteriophage*. J Infect Dis. 1951; 88(3):254–255; DOI: 10.1093/infdis/88.3.254.

[4] Cavanaugh D. C., Quan S.F. *Rapid identification of Pasteurella pestis using specific bacteriophage lyophilized on strips of filter paper; a preliminary report*. Am J Clin Pathol. 1953; 23(6): 619–620.

[5] Hertman I. *Bacteriophage common to Pasteurella pestis and Escherichia coli*. J Bacteriol. 1964; 88:1002–1005; DOI: 10.1128/jb.88.4.1002-1005.1964.

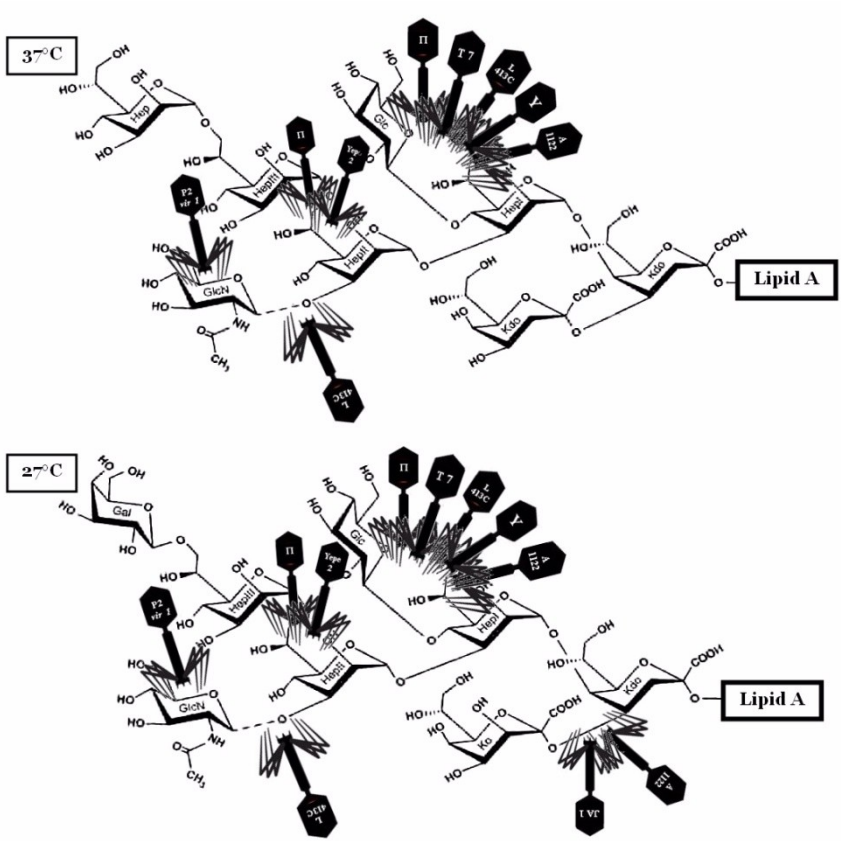


Рис. 32.3. *Химические структуры кора ЛПС Y. pestis при 27°C и 37°C (по Книрель Ю. А., 2012) с отмеченными на них участками, распознаваемыми бактериофагами Покровской (П), Л-413С (L413C), φA1122 (A1122), Yepe2, P2 vir1, JA1, T7Yp (T7) и Y. Обратите внимание, что большинством бактериофагов распознаётся участок кора HepI/Glc. Кроме того, бактериофаг JA1 распознаёт участок кора только в модификации при 27°C, а бактериофаг φA1122 при этой модификации имеет только один участок распознавания*

из «мутных бляшек», образовавшихся на культуре чумного микроба при 27°C.

Вполне вероятно, что внимательного читателя заинтересует бактериофаг H в том смысле, что ранее (в Главе 6) мы говорили про бактериофаг с таким же названием, выделенный в 1965 году Нико-

лаем Николаевичем Новосе́льцевым. Здесь же также говорится про бактериофаг H, но упоминается 1953 год и Калифорнийский университет в Беркли. Путаницы нет, это разные бактериофаги: бактериофаг 1953 года – литический, а бактериофаг 1965 года – умеренный. Дальше интереснее. Мы помним, что помимо умеренного бактериофага H был получен ещё и H-I. Из них посредством пассирования (7–12 раз) были получены мутант бактериофага H, названный H-2, и мутанты бактериофага H-I, названные H-3 и H-4. Эти мутанты, являющиеся литическими, некоторое время использовались в качестве диагностических под названием бактериофаг Новосельцева (Рис. 32.4), однако так и не вошли в широкое употребление. И как тут не запутаться?!



Рис. 32.4. *Негативные колонии бактериофага Новосельцева (любезно предоставлено Татьяной Евгеньевной Арсеньевой)*

В Китае применяют выделенный там же бактериофаг Yep-phi, относящийся к серовару 1 (семейство *Podoviridae*). Этот бактериофаг хотя и является близкородственным колифагу T7, не способен лизировать иных представителей рода *Yersinia*, кроме *Y. pestis* (бактериофаг образует негативные колонии только при 26°C). Кроме того, генетически он близок бактериофагам Berlin и Yepe2[1].

Известны также бактериофаги P2 *vir* 1, JA1 и $T7_{Yp}$, но они не используются в диагностике.

Из-за возможности развития резистентности, о которой мы говорили ранее, поиск новых высокоспецифичных литических бакте-

[1] Zhao X., Wu W., et al. *The complete genome sequence and proteomics of Yersinia pestis phage Yep-phi*. J Gen Virol. 2011; 92(Pt 1):216–221; DOI: 10.1099/vir.0.026328-0.

риофагов продолжается. Так, в 2023 году были выделены[1] новые бактериофаги YpEc56, YpEc56D, YpEc57, YpEc58, YpEc1, YpEc2, YpEc11 и YpYeO9 (Рис. 32.5), относящиеся к серовару 1 (семейство *Podoviridae*). Проведённые исследования показали высокую специфичность только бактериофагов YpEc11 и YpYeO9, а результаты полногеномного секвенирования позволили их идентифицировать как новый вид семейства *Autographiviridae*.

Табл. 32.1. Участки кора ЛПС чумного микроба, распознаваемые различными диагностическими бактериофагами

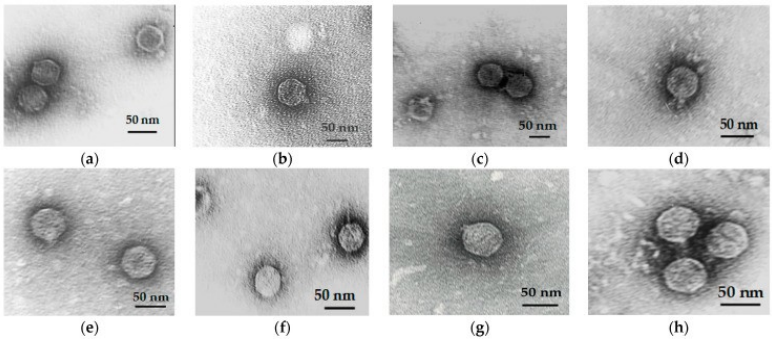
Бактериофаг	**Участок кора ЛПС чумного микроба**
Покровской	HepIII/HepII – HepI/Glc
Л-413С	HepIII/HepII(GlcNAc) – HepI/Glc
φA1122	HepI/Glc – Kdo/Ko
H	не определён
Yepe2	HepIII/HepII
Yep-phi	не определён (также распознаются белки Ail и OmpF)
P2 *vir 1*	GlcNAc
JA1	Kdo/Ko
$T7_{Yp}$	HepI/Glc
Y	

Несколько лет назад был предложен[2] интересный метод обнаружения чумного микроба, основанный на способности бактериофагов связываться с бактерией посредством **рецепторсвязывающих белков** (RBP; receptor binding proteins). В частности, были получены рецепторсвязывающие белки бактериофагов *Л*-413С и φA1122, чьи гены *gpH* и *gp17* рецепторсвязывающих белков были слиты с генами флуоресцентных белков mCherry и eGFP, что позволило получить флуоресцентные белки mCherry-RBP и eGFP-RBP названных бактериофагов, и с их помощью обнаруживать клетки *Y. pestis* методами флуоресцентной микроскопии (Рис. 32.6). Данный метод оказался простым и быстрым, но, что важнее, высоко-

[1] Suladze T., Jaiani E., et al. *New Bacteriophages with Podoviridal Morphotypes Active against Yersinia pestis: Characterization and Application Potential.* Viruses. 2023; 15(7):1484; DOI: 10.3390/v15071484.

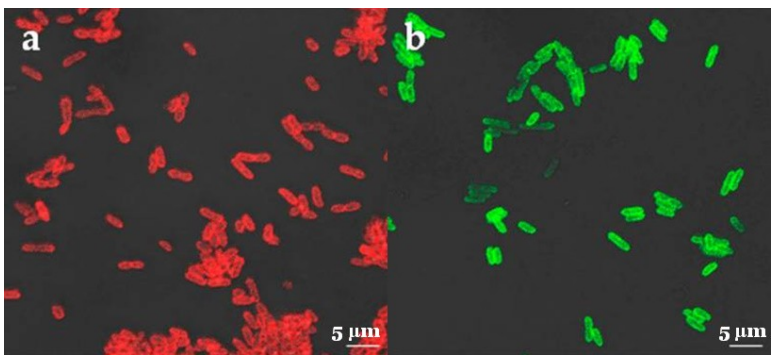
[2] Born F., Braun P., et al. *Specific Detection of Yersinia pestis Based on Receptor Binding Proteins of Phages*. Pathogens. 2020; 9(8):611; DOI: 10.3390/pathogens9080611.

специфичным [1], причём белки бактериофага *Л*-413С показали большую специфичность, чем белки бактериофага φA1122, поскольку последние, как и сам бактериофаг, могут связываться с *Y. pseudotuberculosis* при 37°С. Кроме того, наличие капсулы не оказывало значительного влияния на способность mCherry-RBP бактериофага *Л*-413С связываться с бактериальной клеткой.



▲ ***Рис. 32.5.*** *Бактериофаги YpEc1 (a), YpYeO9 (b), YpEc56D (c), YpEc58 (d), YpEc57 (e), YpEc2 (f), YpEc11 (g) и YpEc56 (h); просвечивающая электронная микроскопия, ув.40000х (по Suladze T., 2023)*

▼ ***Рис. 32.6.*** *Флуоресцентная микроскопия белков mCherry-RBP (a) бактериофага Л-413С и eGFP-RBP (b) бактериофага φA1122 (по Born F., 2020)*



[1] Тут следует, однако, заметить, что приобретаемая бактерией резистентность к рецепторсвязывающим белкам бактериофагов ставит под угрозу специфичность данного метода, впрочем, как и любого метода на основе диагностических бактериофагов в целом, поэтому к отрицательным результатам по бактериофагам следует относиться весьма настороженно.

33 ИММУНОХИМИЯ: АНТИГЕН – АНТИТЕЛО

В 1944 году Арчер Ма́ртин[1] и Ри́чард Си́ндж[2] создали метод, позволивший на тонком целлюлозном носителе разделить смесь аминокислот. Новый метод получил название *бумажная хроматография*. Уже через год на его основе был создан *иммунохроматографический анализ* (ИХА, LFT, от англ. **l**ateral **f**low **t**est)[3], позволяющий быстро и просто обнаруживать присутствие целевого вещества (антигена) в жидкой пробе.

Принцип действия ИХА состоит в том, что при попадании анализируемой жидкости на нижнюю часть полоски она начинает мигрировать, соединяясь с мечеными антителами. При этом различают две формы анализа – прямую («се́ндвич») и конкурентную.

В первом случае исследуемая проба (аналит), содержащая антиген (**Аг**), связывается с конъюгатом – меченым антителом, как правило, коллоидным золотом (**Ат***). По мере движения образованный комплекс встречает первый барьер, где связывается со специфическими антителами (**Ат**), образуя «сендвич»: **Ат – Аг – Ат***. Избыток конъюгата (**Ат***) движется дальше, встречая второй барьер, где связывается с антителами (**Ат′**) к этому конъюгату: **Ат′ – Ат***. В итоге, если проба (аналит) содержит антиген, цветные метки (**Ат***) будут задержаны обоими барьерами, а если не содержит – то только вторым барьером. Визуально это будет идентифицироваться как одна и две полоски (как правило, барьеры отмечают буквами «Т» – тест и «С» – контроль). Таким образом, любой результат, где отсутствует полоска контроля (говорят: не проходит контроль) следует считать невалидным (т. е. недействительным). Данная форма ИХА применяется для идентификации высокомолекулярных соединений, таких как антигены возбудителей инфекционных заболеваний и гормоны.

---

[1] Archer John Porter Martin, 1910–2002; британский химик. Лауреат Нобелевской премии по химии (1952).

[2] Richard Laurence Millington Synge, 1914–1994; британский биохимик. Лауреат Нобелевской премии по химии (1952).

[3] Consden R., Gordon A. H., et al. *Qualitative analysis of proteins: a partition chromatographic method using paper*. Biochem J. 1944; 38(3):224–232; DOI: 10.1042/bj0380224.

Во втором случае исследуемая проба (аналит), содержащая антиген (**Аг**), также связывается с конъюгатом (**Ат***), но поскольку имеет только один центр связывания, уже не может связаться с антителами (**Ат**) первого барьера, при этом избыток конъюгата (**Ат***), достигая второго барьера, связывается с антителами (**Ат'**) к этому конъюгату. В итоге, если проба (аналит) содержит антиген, цветные метки (**Ат***) будут задержаны только вторым барьером (**Ат' – Ат***), а если не содержит – то обоими барьерами. Таким образом, как и в первом случае, любой результат, где отсутствует полоска контроля, следует считать невалидным, но в отличие от первого случая отрицательным будет считаться результат, где визуализируются две полоски. Данная форма ИХА применяется для идентификации низкомолекулярных соединений, таких как метаболиты наркотических соединений, содержащиеся в моче и жидкости ротовой полости.

В случае чумного микроба применяют ИХА первой формы, используя в качестве специфической мишени (искомого антигена) капсульный антиген. Простота использования системы даёт возможность быстрого (в течение 20 минут) выявления и идентификации не только непосредственно клеток чумного микроба, но и их «следов» (капсульного антигена) из объектов окружающей среды. Не зря этот тест, наравне с МФА, является обязательным в критериях определения случая чумы (вероятный и подтверждённый случаи) Всемирной организации здравоохранения.

Сам тест представляет собой диагностическую панель с лункой для внесения образца, а также зонами «Т» и «С» для визуальной оценки результатов. С точки зрения биологической безопасности располагают панель в чашке Петри для предотвращения возможной аварии. В качестве меченых антител используются как поликлональные антитела, так и моноклональные. Чувствительность тест-системы на основе поликлональных антител составляет 10^6 м. к./мл или 0,1 мкг/мл для капсульного антигена. В случае моноклональных антител – 10^3 м. к./мл или 0,004 мкг/мл для капсульного антигена, однако исследования[1] показывают, что в случае ис-

[1] Hsu H.-L., Chuang C.-C., et al. *Rapid and sensitive detection of Yersinia pestis by lateral-flow assay in simulated clinical samples*. BMC Infect Dis. 2018; 18:402; DOI: 10.1186/s12879-018-3315-2.

пользования образцов клинического материала (кровь, бронхоальвеолярная жидкость) чувствительность снижается до 10^4–10^5 м. к./мл или 0,01–0,1 мкг/мл для капсульного антигена (Рис. 33.1).

Ранее мы говорили о существовании так называемых бесфракционных штаммов чумного микроба, которые, как несложно догадаться, не могут быть идентифицированы данным методом. Поэтому в настоящее время разрабатываются[1] тест-системы ИХА, содержащие моноклональные антитела к капсульному антигену и LcrV (соответственно результат учитывается по трём полоскам). Чувствительность такой тест-системы составляет 0,001–0,002 мкг/мл.

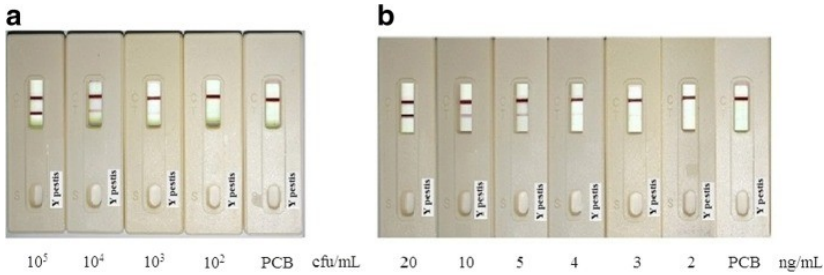


Рис. 33.1. *Анализ чувствительности панели для чумного микроба (a) и капсульного антигена (b). Можно видеть наличие слабой полоски положительного результата в случае 10^3 м. к./мл и 4 нг/мл, т. е. 0,004 мкг/мл (Hsu H.-L., 2018)*

Для исследования образца[2] на содержание специфичных к капсульному антигену антител (IgG) используют ИХА-тесты, представляющие собой полоску из нитроцеллюлозы шириной 5 мм. Вместо антител тестовая часть содержит адсорбированный очищенный антиген (капсульный антиген или совместно с LcrV), а контрольная – бычий сывороточный альбумин. Исследуемый образец впитывается в нижнюю часть полоски и поднимается вверх, последовательно взаимодействуя с антигеном и альбумином. В итоге, если проба содержит антитело, происходит его связывание с антигеном, а неспецифичные антитела поднимаются выше и взаимодействуют

[1] Hau D., Wade B., et al. *Development of a dual antigen lateral flow immunoassay for detecting Yersinia pestis*. PLoS Negl Trop Dis. 2022; 16(3):e0010287; DOI: 10.1371/journal.pntd.0010287.

[2] Чаще всего сыворотки крови, разведённой фосфатным буфером с 0,5%-ным Твин-80 в количестве 1:100.

с альбумином. Оба взаимодействия приводят к образованию полос розового цвета.

Можно видеть, что все эти тесты основаны на специфической реакции между антигеном и антителом, поэтому их также называют *серологическими реакциями*. Независимо друг от друга в начале 70-х годов прошлого столетия Евой Энгвалл[1] и Пе́тером Перельма́ном[2], а также Ба́уке ван Ве́меном[3] и Анто́ном Шу́рсом[4], был создан[5] ещё один метод – *иммуноферментный анализ* (ИФА, ELISA, от англ. **e**nzyme-**l**inked **i**mmuno**s**orbent **a**ssay), который позволяет выявить комплекс «антиген – антитело» с помощью субстрата, расщепляемого ферментом, в результате чего происходит окрашивание. И поскольку за счёт каталитических свойств ферментов для достижения окрашивания требуется меньшее количество комплексов, ИФА отличается высокой чувствительностью, хотя и сложнее в выполнении, чем ИХА.

К настоящему времени разработаны различные методы ИФА, однако для детекции чумного микроба чаще всего применяют вариант *непрямого неконкурентного гетерогенного ИФА*, именуемый «се́ндвич». По принципу действия данный вариант похож на прямой ИХА, который, как мы помним, также именуется «сендвич». Суть метода «сендвич» ИФА состоит в том, что на твёрдый носитель (чаще дно лунки планшета) с иммобилизованными (т. е. прикреплёнными) антителами (**Ат**) добавляют исследуемую пробу (аналит), содержащую антиген (**Аг**). При инкубации этот антиген связывается с антителами, а непрореагировавшие компоненты реакции удаляются отмывочным раствором. Далее вносят конъюгат, представляющий собой специфические антитела (**Ат***), меченные ферментом и способные связываться с антигеном (**Аг**). Непрореагировав-

---

[1] Eva Engvall, p. 1940; шведский биохимик.

[2] Peter Perelmann, 1919–2005; чехословацкий и шведский биохимик. Эмигрировал в Швецию во время немецкой оккупации Судетской области в Чехословакии.

[3] Bauke van Weemen, 1873–1936; нидерландский врач.

[4] Anton Schuurs, нидерландский врач.

[5] Engvall E., Perelmann P. *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, Elisa: III. Quantitation of Specific Antibodies by Enzyme-Labeled Anti-Immunoglobulin in Antigen-Coated Tubes*. J Immunol. 1972; 109(1):129–135; DOI: 10.4049/jimmunol.109.1.129; Van Weemen B. K., Schuurs A. H. W. M. *Immunoassay using antigen-enzyme conjugates*. FEBS Letters. 1971; 15(3):232–236; DOI: 10.1016/0014-5793(71)80319-8.

шие компоненты снова удаляются промывкой. В итоге, если проба (аналит) содержит антиген, он оказывается как бы зажат между иммобилизованными антителами и конъюгатом, образуя «сендвич»: **Ат – Аг – Ат***.

В качестве конъюгата используют моноклональные антитела, меченные пероксидазой хрена или иной пероксидазой коммерческого производства. Для визуализации «сендвича» используют субстрат-индикаторный раствор, состоящий из перекеси водорода и вещества, окисляющегося при взаимодействии с пероксидазой и перекисью водорода, что приводит к окрашиванию раствора, которое оценивается визуально и фотометрически. В качестве такого вещества применяют, например, ABTS (2,2'-азино-бис-(3-этилбензтиозолин-6-сульфокислоты) диаммониевая соль), окрашивающую раствор в зелёно-голубой цвет (длина волны 405–420 нм), и TMB (3,3’,5,5’-тетраметилбензидин), окрашивающий раствор в синий цвет (длина волны 370–650 нм). Для остановки реакции используют серную или ортофосфорную кислоты.

Чувствительность тест-системы в случае чумного микроба составляет 10^6 м. к./мл (при отсутствии положительного результата с другими микроорганизмами в концентрации 10^9 м. к./мл), а в случае капсульного антигена – 0,004 мкг/мл. Как и в случае ИХА, разрабатываются тест-системы ИФА для диагностики бесфракционных штаммов, содержащие моноклональные антитела к капсульному антигену и LcrV.

Методом ИФА исследуют ткани и органы, а также сыворотку крови. Пробоподготовка включает в себя обеззараживание (инактивацию) мертиолятом натрия до конечной концентрации 1:10000 (0,01%) с прогреванием полчаса при 56°С. Некоторые специалисты для обеззараживания используют формалин, добавляя его в пробы до конечной концентрации 1% с последующей экспозицией не менее 3 часов или 2% с экспозицией час, после чего прогревают полчаса при 72°С. Далее 100 мкл пробы отбирают в пробирку объёмом 1,5 мл и добавляют лизирующий раствор, приготовленный на основе 6М гуанидинизотиоцианата, или раствор коммерческого производства, после чего инкубируют в течение 15 минут при 65°С. Далее пробу можно центрифугировать для осаждения осадка

(600 об/мин в течение 2–3 минут) и отбирать надосадочную жидкость на границе фаз.

Если исследуются погадки птиц, то при помощи 1%-ного раствора формалина на фосфатно-солевом буфере концентрацией 0,1 моль/*л* готовятся их суспензии, которые можно объединить в одну пробу, которую отстаивают, исследуют надосадочную жидкость. Экскременты хищников растирают с 1%-ным раствором формалина и через сутки исследуют. Костные остатки исследуют чаще индивидуально (допускается объединение до 20–25 штук), измельчая и заливая десятью объёмами 1%-ным раствором формалина с физиологическим раствором.

Если культура на чашке заросла посторонней микрофлорой, то её выдерживают сутки в термостате при 37°С (чтобы наработать капсульный антиген), после чего переносят на чашку с 3–4 *мл* 2%-ного раствора формалина для обеззараживания. Через сутки жидкость исследуют. Существует и иной способ. Готовят суспензию культуры, снятой из разных секторов чашки, в физиологическом растворе, после чего добавляют формалин до конечной концентрации 2% и исследуют через сутки.

В качестве более дешёвой альтернативы применяют *точечный твёрдофазный иммуноферментный анализ* или *дот-ИФА* (ДИА, dot-ELISA), предложенный[1] в 1982 году. Суть этого метода заключается в том, что вместо лунок микропланшета используют нитроцеллюлозную подложку с нанесённым на неё в виде точек антителом (антигеном), помеченным цветной меткой. В результате реакции образуются цветные пятна, легко различимые на белом фоне, что исключает необходимость использования фотометра.

Разработанные[2] тест-системы с коллоидным серебром в качестве метки имеют чувствительность в случае чумного микроба 5 х 10^4 м.к./*мл*, а в случае капсульного антигена – 0,0048 мкг/*мл*.

---

[1] Hawkes R., Niday E. *A dot-immunobinding assay for monoclonal and other antibodies*. Anal Biochem. 1982; 119(1):142–147; DOI: 10.1016/0003-2697(82)90677-7.

[2] Носкова О. А., Загоскина Т. Ю., и др. *Применение ДОТ-иммуноанализа для выявления антигенов чумного микроба в полевом материале*. Проблемы особо опасных инфекций. 2014; 3:69–71

В 1949 году Эрья́н Оухтерло́ни[1] опубликовал статью[2], в которой, резюмируя собственный опыт изучения дифтерийного токсина[3] и наблюдения других учёных (в частности, Ге́нриха Бехго́льда[4] ещё в 1905 году[5]), предложил метод идентификации антигена и антитела, основанный на уже известной нам реакции антиген – антитело, путём измерения градиентов диффузии в геле, получивший название *реакция диффузной преципитации по Оухтерлони*.

В общем виде преципитация (от лат. praecipitatio – «падаю вниз») это химическая реакция, в результате которой образуется осадок. Так, например, если взять узкую пробирку и на 0,3 мл иммунной сыворотки (т. е. сыворотки, содержащей антитела) аккуратно по стеночке прилить равное количество образца, содержащего антиген, то в результате их взаимодействия образуется тонкое непрозрачное кольцо комплекса «антиген – антитело», именуемое *преципитатом*. Если при этом образец является экстрактом ткани и органа (1–2 г), предварительно залитой физиологическим раствором (5–10 мл) и прокипячённой полчаса, то такую реакцию называют *термопреципитация* или *преципитация по Асколи*, в честь Альбе́рто Аско́ли[6], предложившего её в 1911 году для обнаружения антигенов возбудителя сибирской язвы[7].

Сложность реакции по Асколи состоит в том, что порой кольцо бывает сложно визуализируемым, а также, если прилить образец быстро, оно и вовсе не образуется. Поэтому поистине революционная идея Эрьяна Оухтерлони состояла в том, чтобы «перенести» эту реакцию из пробирки на чашку Петри. Для постановки реакции

---

[1] Örjan Thomas Ouchterlony, 1914–2004; шведский врач, бактериолог. Член Шведской Академии наук (1968).

[2] Ouchterlony Ö. *Antigen – antibody reactions in gels*. Acta Pathol Microbiol Scand. 1949; 26(4):507–515; DOI: 10.1111/j.1699-0463.1949.tb00751.x.

[3] Ouchterlony Ö. *In vitro method for testing the toxin-producing capacity of Diphtheria bacteria*. Acta Pathol Microbiol Scand. 1949; 26(4):507–515; DOI: 10.1111/j.1699-0463.1948.tb00655.x.

[4] Heinrich Jakob Bechhold, 1866–1937; германский химик, автор работ по коллоидной химии в медицине. Член Немецкой Академии естествоиспытателей Леопольдина (1932).

[5] Bechhold H. *Strukturbildung in Gallerten*. Zeitschrift für Physikalische Chemie. 1905; 52U(1):185–199; DOI: 10.1515/zpch-1905-5210.

[6] Alberto Ascoli, 1877–1957; итальянский химик, гигиенист.

[7] Ascoli A. *Die Präzipitindiagnose bei Milzbrand*. Centralbl Bakt Parasit Infeckt. 1911; 58:63–70.

1,5%-ный агарозный гель тонким слоем выливают на чашку и после затвердевания осторожно вырезают в нём лунки, в которые помещают исследуемую пробу и антиген или антитело, в зависимости от того, на что исследуют пробу. Помещённые в лунки антиген и антитело диффундируют друг к другу, в результате чего между лунками образуется тонкая полоска преципитата. При этом у многокомпонентных систем между лунками с антигенами и антителами появляется несколько линий преципитации: у идентичных антигенов линии преципитации сливаются, а у различных – пересекаются (Рис. 33.2).

Данный метод чаще всего применяется для качественного анализа, однако его можно использовать полуколичественно, если использовать разведения исследуемой пробы. Для количественной оценки антигена также применяют *радиальную иммунодиффузию по Манчини*, разработанную Джулиа́ной Манчи́ни[1] в 1964 году[2]. Суть этого метода состоит в том, что моноспецифичную сыворотку, содержащую антитело, заранее диспергируют в геле. Тогда, после внесения пробы в лунку, вокруг неё образуется кольцо преципитации, по диаметру которого и оценивают количество антигена в пробе.

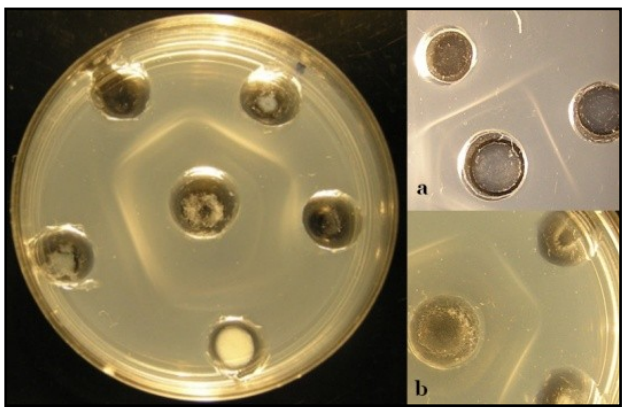


Рис. 33.2. *Реакция диффузной преципитации по Оухтерлони культуры чумного микроба: общий вид (слева), пересечение (a) и сливание (b) линий преципитации*

[1] Giuliana Mancini, 1934–?; итальянский врач.

[2] Mancini G., Carbonara A. O., et al. *Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion*. Immunocemistry. 1965; 2(3):235–254; DOI: 10.1016/0019-2791(65)90004-2.

Ещё одним простым способом обнаружения антигена является *реакция агглютинации* (РА), при которой под действием антител происходит склеивание (*образование агглютината*) и выпадение в осадок корпускулярных антигенов, то есть бактерий, а также частиц с адсорбированными на них антигенами. Проводят данную реакцию на стекле и в пробирках.

В первом варианте на обезжиренное стекло, лежащее в чашке Петри, наносят три капли физиологического раствора и в две из них добавляют по капле специфической (адсорбированной) сыворотки или неадсорбированной сыворотки, предварительно разведённой в соотношении 1:25–1:5. Затем петлёй рядом с каплей физиологического раствора наносят инкубированную при 30°С суточную культуру, плавными круговыми движениями растирают её и вносят сначала в каплю физиологического раствора, а затем в близлежащую каплю сыворотки, размешивая в каждой капле до образования гомогенной взвеси. При этом капля физиологического раствора является контролем культуры, а капля с сывороткой, куда не вносилась культура, – контролем сыворотки. Контроли нужны для того, чтобы исключить спонтанную агглютинацию культуры и сыворотки. При положительной реакции в капле сыворотки через 5–10 минут образуется хлопьевидный осадок (Рис. 33.3). Следует отметить, что для удобства некоторые специалисты проводят эту реакцию непосредственно в чашке Петри.

Описанный метод принято считать ориентировочным. Развернутый метод был предложен Евгенией Ильиничной Коробковой и заключается в постановке реакции с цельной сывороткой и её разведениями 1:2, 1:4, 1:8 и так далее до 1:128.

Примечательно, что до развития молекулярно-генетических методов исследования данный вариант использовался для подтверждения идентичности штамма в очаге. Для этого в качестве сыворотки использовали сыворотку крови от первого больного. В том случае, если выделенный от какого-то больного штамм микроорганизма агглютинировался сывороткой от первого больного, можно было говорить, что этот больной инфицирован тем же штаммом.

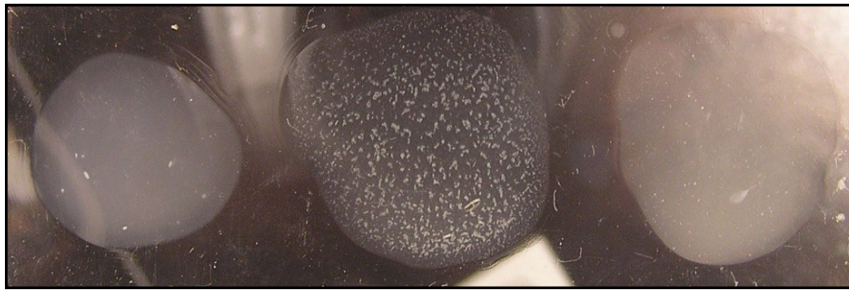


Рис. 33.3. *Реакция агглютинации на стекле: положительная реакция (в середине), а также контроль сыворотки (слева) и культуры (справа)*

Во втором варианте, предложенном[1] Рубе́ном Ка́ном[2] в 1922 году и также считающимся развёрнутым, в одинаковые пробирки вносят по 1 мл физиологического раствора. Затем 0,1 мл рабочего разведения сыворотки (например, 1:50) добавляют в отдельную пробирку (контроль) и первую пробирку с физиологическим раствором (1:100), после чего титруют последовательным переносом из пробирок с физиологическим раствором по 1 мл (т. е. получают разведения сыворотки 1:200, 1:400, 1:800 и т. д.). Во все пробирки (кроме контрольной) добавляют по 0,1 мл (две капли) культуры, а также в отдельную пробирку с 1 мл физиологического раствора (контроль). Далее пробирки аккуратно встряхивают и инкубируют при 28°С. Учёт результатов осуществляют предварительно через 2 часа и окончательно через сутки.

Схема метода приведена в Табл. 33.1. «Читают» её, как и Табл. 31.3, сверху вниз по строчкам. Стрелка «→» указывает на перенос указанного над ней объёма (в данном случае 1 мл) в следующую пробирку, стрелка «↑» – на удаление указанного рядом с ней объёма (в данном случае 1 мл) из пробирки в раствор дезинфектанта. Цифра без стрелки обозначает вносимый объём. Аналогичным образом «читают» все приведённые далее схемы.

---

[1] Khan R. L. *A simple quantitative precipitation reaction for syphilis*. Arch Derm Syphilol. 1922; 5(5):570–578; DOI: 10.1001/archderm.1922.02350300011003.

[2] Reuben Leon Khan, 1887–1979; американский военный врач литовского происхождения. Родился в литовском городе Свире (тогда – Российская Империя), но в возрасте 12 лет был перевезён родителями в США. Один из основателей иммунологии, автор работ по серологическим реакциям.

Табл.33.1. Схема постановки РА (по Р. Кану)

Пробирки / Реактивы	1	2	3	4	5	Контроль	
						Сыворотки	Культуры
Физиологический раствор, мл	1	1	1	1	1	1	1
Сыворотка, мл	1 →	→	→	→	1 ↑	1	
Культура, мл	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1		0,1
Инкубация при 28°С							

Уже в 1925 году Арлéйл Нóбл[1] предложила[2] модификацию этого метода, применяемую в лабораторной диагностике чумы и основанную на том, что если первую стадию агглютинации (соединение антигена с антителом) провести при больших концентрациях, результат реакции можно получить быстрее. Для постановки используют 8 пробирок. В пробирки со 2 по 8 вносят по 0,1 мл физиологического раствора, а в пробирку 1 – 0,2 мл цельной сыворотки. Затем из первой пробирки во вторую переносят 0,1 мл сыворотки (разведение 1:2) и далее титруют до восьмой пробирки (1:128), после чего в каждую пробирку добавляют по 0,1 мл (две капли) культуры и тщательно встряхивают в течение 3–5 минут. После этого во все пробирки добавляют по 0,8 мл физиологического раствора, благодаря чему достигается конечная концентрация 1:10, 1:20 и так далее. Схема метода приведена в Табл. 33.2. Учёт результатов осуществляют предварительно сразу и окончательно через 15 минут.

Как и многим бактериям, патогенным йерсиниям присуща спонтанная агрегация в жидкой среде (аутоагглютинация). У *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* аутоагглютинация проявляется только при 37°С и обусловлена действием YadA, тогда как у чумного микроба аутоагглютинацию обеспечивает выделенный[3] в

[1] Arlyl Noble, 1887–1981; американский врач, первая женщина-бактериолог в США.

[2] Noble A. *A rapid method for the macroscopic agglutination test*. J Bacteriol. 1927; 14(5):287–300; DOI: 10.1128/jb.14.5.287-300.1927 (метод был представлен на собрании Общества американских бактериологов 29–31 декабря 1925 года).

[3] Рыкова В. А. *Характеристика фактора аутоагглютинации возбудителя чумы*. Дис. … кандидата биологических наук. Ростов-на-Дону, 2010, 141 с.

2010 году **фактор агглютинации**, представляющий собой комплекс белка молекулярной массой 17,5 кДа с низкомолекулярным компонентом. В качестве контроля аутоагглютинации используют две пробирки с 0,9 мл физиологического раствора, в одну из которых добавляют 0,1 мл (две капли) культуры, а в другую – 0,1 мл цельной сыворотки.

Табл. 33.2. Схема постановки РА (по А. Нобл)

Пробирки / Реактивы	1	2	3	…	8	Контроль	
						Сыворотки	Культуры
Физиологический раствор, мл	0,1	0,1	0,1	…	0,1	0,9	0,9
Сыворотка, мл	0,2 $\overset{0,1}{\rightarrow}$	$\overset{0,1}{\rightarrow}$	$\overset{0,1}{\rightarrow}$	…	0,1 ↑	0,1	
Культура, мл	0,1	0,1	0,1	…	0,1		0,1
Встряхивать 3–5 минут							
Физиологический раствор, мл	0,8	0,8	0,8	…	0,8		

Оценку результатов проводят по системе четырёх крестов:

4+	++++	раствор прозрачный, имеется выраженный осадок (результат положительный)
3+	+++	раствор немного мутный (отсутствует полное просветление), осадок имеется (результат положительный)
2+	++	раствор мутный, осадок незначительный (результат сомнительный)
1+	+	раствор мутный, осадок отсутствует (результат отрицательный)
Контроль сыворотки		раствор прозрачный
Контроль антигена		раствор равномерно мутный

В качестве дополнительного метода используют *реакцию гемагломерации*. Для этого в чашке Петри двухсуточную культуру, выращенную при 37°С, петлёй или в виде суспензии (10^9 м. к./мл) смешивают с 0,05 мл (одна капля) чумного антительного (иммуноглобулинового) эритроцитарного диагностикума и через 5–7 минут при помощи вогнутого зеркала проводят учёт реакции. Оценку результатов проводят по системе четырёх крестов:

4+	++++	полное просветление жидкости, агломерация (скопление) всех эритроцитов
3+	+++	неполное просветление жидкости, агломерация основной массы эритроцитов
2+	++	неполное просветление жидкости, основная масса эритроцитов не агломерирована
1+	+	единичные частицы агломерата
	–	отсутствие просветления жидкости и агломерации эритроцитов

Рассмотрим ещё один метод, именуемый *реакцией коагглютинации* (Ко-А), основанный обнаруженной [1] в 1939 году Сэ́муелем Ко́уэном[2] способности белка А клеток золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus* Cowan 1) адсорбировать антитела класса G. Механизм этого процесса заключается в том, что белок А, за счёт изменений в гене *spa*, имеет сродство к Fc-фрагменту иммуноглобулинов, поэтому если обработать такие клетки иммунной сывороткой, они будут неспецифически адсорбироваться антителами, которые, в свою очередь, будут агглютинировать с антигенами. Данный метод не применялся в лабораторной диагностике чумы до 1972 года, когда Нина Васильевна Божко́ выделила[3] **фракцию V** (FV-антиген) из бесфракционных штаммов чумного микро-

[1] Cowan S. T. *Classification of staphylococci by slide agglutination*. J Pat Bacteriol. 1938; 48(1):169–173; DOI: 10.1002/path.1700480117.

[2] Samuel Tertius Cowan, 1905–1976; британский врач, бактериолог.

[3] Божко Н. В. *Получение диагностических препаратов на основе антигенов чумного микроба, выделенных поверхностно-активными веществами*. Автореферат дис. … кандидата биологических наук. Ростов-на-Дону, 1972, 23 с.

ба[1]. Если затем этой фракцией иммунизировать кроликов, то можно получить IgG-анти-FV-антисыворотку, чтобы использовать в составе как Ко-А диагностикума, так и в реакциях агглютинации для идентификации бесфракционных штаммов чумного микроба (поскольку они не синтезируют капсульный антиген) и их дифференцировки с псевдотуберкулёзным.

Интересно, что в отличие от капсульного антигена синтез фракции V не зависит от температуры культивирования, а белок в её составе, имеющий наибольшую иммунную активность, идентифицирован[2] как кодируемый геном *tal* фермент трансальдолаза (Tal). Аналогичный ген отвечает за синтез трансальдолазы у *Y. pseudotuberculosis*, только, в отличие от чумного микроба, у различных штаммов псевдотуберкулёзного встречаются его вариации, но всего в 6–9 нуклеотидов (около 1%). При этом в случае максимального отличия в 9 нуклеотидов (*Y. pseudotuberculosis* IP31758) разница в аминокислотной последовательности с таковой у возбудителя чумы будет всего в одну аминокислоту (в 57 положении у *Y. pestis* находится аланин, а у *Y. pseudotuberculosis* – треонин). Причина, по которой при идентичных трансальдолазах антитела к фракции V агглютинируют только чумной микроб, вероятно, кроется в строении ЛПС псевдотуберкулёзного микроба, который экранирует доступ антител к фракции V.

---

[1] Способ получения: к 100 мл бактериальной взвеси (10^9 м. к./мл) в физиологическом растворе добавляют дезоксихолат натрия до конечной концентрации 0,005%, после чего шуттелируют (т. е. встряхивают при режиме встряхивания не менее 50–60 колебаний в минуту) при комнатной температуре 3 часа. Затем центрифугируют полчаса (10000 об/мин) при 4–8°С. Надосадочную жидкость сливают, а к осадку добавляют 100 мл физиологического раствора и повторяют описанные действия четыре раза, добавляя последовательно дезоксихолат натрия до конечных концентраций 0,02%, 0,08%, 0,32% и 1,28%. К полученному супернатанту (пятой фракции) добавляют 5 объёмов ацетона, охлаждённого до минус 20°С, и оставляют при минус 20°С на 18–20 часов для формирования осадка. Затем осадок растворяют в 50 мл дистиллированной воды и отделяют методом диализа 4–5 суток. Полученную фракцию V хранят лиофильно высушенной или разлитой при минус 20°С.

[2] Трухачёв А. Л., Копылов П. Х., и др. *Трансальдолаза – один из наиболее иммунологически активных компонентов препарата «фракция V» Yersinia pestis*, в сб. *IX Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Молекулярная диагностика – 2017», под ред. В. И. Покровского*. Тамбов: ООО фирма «Юлис», 2017, 544 с.

В 1946 году Анатолий Тимофеевич Кра́вченко[1] и Михаил Игнатьевич Соколо́в[2] показали[3], что эритроциты, на которых предварительно адсорбированы полисахаридные антигены, приобретают способность агглютинироватася в присутствии гомологичных сывороток. Это стало началом развития *гемагглютинационных тестов*, которые применяют в тех случаях, когда выделение чистой культуры возбудителя затруднено.

Реакция непрямой (РНГА) или пассивной (РПГА) гемагглютинации основана на способности специфического склеивания (гемагглютинации) эритроцитов, сенсибилизированных (нагруженных) специфическим антигеном или антителом, с материалом, содержащим соответственно специфическое антитело или антиген. При этом результат реакции наблюдается в виде выпадения на дно лунки планшета склеенных эритроцитов.

Пробоподготовка аналогична таковой для ИФА за тем исключением, что поскольку обычно в крови больных содержится сравнительно малое количество капсульного антигена, 150 мкл обеззараженного материала прогревают полчаса при 75°С (а не 15 минут при 65°С). Затем, если образовался осадок, пробу центрифугируют в течение 2–3 минут при 1000 об/мин.

Для постановки в восемь лунок U-образного планшета вносят по 50 мкл разводящей, после чего в первую лунку вносят 50 мкл исследуемого материала, содержащего антиген, или сыворотки крови, содержащей антитела, в разведении 1:10 и титруют до седьмой лунки. Затем во все восемь лунок добавляют по 25 мкл чумного эритроцитарного диагностикума (антительного или антигенного), который предварительно встряхивают. Планшет аккуратно встряхивают для перемешивания компонентов и выдерживают 2 часа при комнатной температуре или полчаса при 37°С. Схема метода для обнаружения антигена приведена в Табл. 33.3, для обнаружения антитела – в Табл. 33.4.

---

[1] Советский (российский) врач, вирусолог. Первый директор НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского (ныне входит в состав НИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи).

[2] 1908–1975; советский (российский) врач, вирусолог.

[3] Кравченко А. Т., Соколов М. И. *Адсорбция специфических полисахаридов бактерий эритроцитами человека.* Журнал микробиологии. 1946; 12:10–16.

Табл. 33.3. Схема постановки РНГА-Аг

Номер лунки / **Реагенты**	**1**	**2**	**3**	**…**	**7**	**Контроль диагностикума**
Разводящая жидкость (10%-ная нормальная кроличья сыворотка[1]), мкл	50	50	50	…	50	25
Исследуемый материал, мкл	50 $\overset{50}{\rightarrow}$	$\overset{50}{\rightarrow}$	$\overset{50}{\rightarrow}$	…	50 ↑	
Чумной антительный эритроцитарный диагностикум, мкл	25	25	25	…	25	25
Инкубация при комнатной температуре (2 часа) или при 37°С (полчаса)						

Табл. 33.4. Схема постановки РНГА-Ат

Номер лунки / **Реактивы**	**1**	**2**	**3**	**…**	**7**	**Контроль диагностикума**
Разводящая жидкость (1%-ная нормальная кроличья сыворотка), мкл	50	50	50	…	50	25
Исследуемый материал, мкл	50 $\overset{50}{\rightarrow}$	$\overset{50}{\rightarrow}$	$\overset{50}{\rightarrow}$	…	50 ↑	
Чумной антигенный эритроцитарный диагностикум, мкл	25	25	25	…	25	25
Инкубация при комнатной температуре (2 часа) или при 37°С (полчаса)						

[1] Традиционно для постановки гемагглютинационных тестов с бактериальными культурами (материалом, содержащем антиген) используют 1%-ную нормальную кроличью сыворотку, поскольку действие антигенов, вызывающих аутоагглютинацию, устраняется на этапе пробоподготовки. Однако в случае чумного микроба пробоподготовка не позволяет полностью устранить действие фактора аутоагглютинации (ФА), ввиду чего необходимо использовать либо нормальную кроличью сыворотку в более высоких концентрациях, либо предварительно инкубировать образцы в 1%-ной кроличьей анти-ФА сыворотке в течение часа.

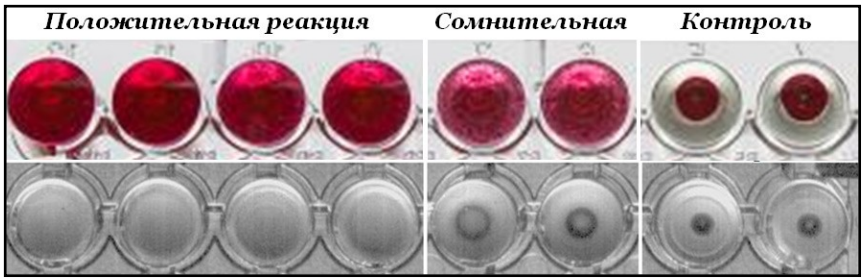


Рис. 33.4. *Реакция непрямой (пассивной) гемагглютинации (верхний ряд) и реакция непрямой (пассивной) латексной агглютинации (нижний ряд)*

Постановка считается валидной, если в контроле отсутствует гемагглютинация, то есть видны маленькие колечки или пуговки на дне лунки. При положительном результате в первых или во всех лунках эритроциты располагаются на дне равномерным слоем (зонтики), а при отрицательном – во всех лунках отсутствует гемагглютинация. Сомнительным считают такой результат, при котором в лунках визуализируются колечки (пуговки) несколько большего диаметра, чем в контроле (Рис. 33.4). В ряде случаев это может происходить из-за того, что в исследуемом материале содержится незначительное количество специфических антител, поэтому с целью контроля специфичности параллельно с РНПА (РПГА) ставят *реакцию торможения непрямой (пассивной) гемагглютинации (РТНГА, РТПГА)*. Суть этой реакции заключается в специфическом подавлении (торможении) гемагглютинации путём добавления к разведениям исследуемого материала специфической сыворотки или убитой культуры в количестве до 20 единиц.

Для определения сывороточной (СЕ) и антигенной (АЕ) единиц в восемь лунок планшета вносят по 25 мкл разводящей жидкости, после чего с первой по седьмую титруют по 25 мкл чумной агглютинирующей сыворотки (1:10000) или взвеси чумного микроба (10^8 м. к./мл) и добавляют во все восемь лунок по 25 мкл чумного эритроцитарного диагностикума (антигенного или антительного соответственно). Планшет выдерживают 2 часа при комнатной температуре или полчаса при 37°С. Схема метода определения СЕ приведена в Табл. 33.5, определения АЕ – в Табл. 33.6.

Табл. 33.5. Схема определения СЕ

Номер лунки / **Реактивы**	**1**	**2**	**3**	**…**	**7**	**Контроль диагностикума**
Разводящая жидкость (1%-ная нормальная кроличья сыворотка), мкл	25	25	25	…	25	25
Чумная агглютинирующая сыворотка (1:10000), мкл	25 $\overset{25}{\rightarrow}$	$\overset{25}{\rightarrow}$	$\overset{25}{\rightarrow}$	…	25 ↑	
Чумной антигенный эритроцитарный диагностикум, мкл	25	25	25	…	25	25
Итоговое разведение сыворотки	1:20000	1:40000	1:80000	…	1:1280000	
Инкубация при комнатной температуре (2 часа) или при 37°С (полчаса)						

Табл. 33.6. Схема определения АЕ

Номер лунки / **Реагенты**	**1**	**2**	**3**	**…**	**7**	**Контроль диагностикума**
Разводящая жидкость (10%-ная нормальная кроличья сыворотка), мкл	25	25	25	…	25	25
Взвесь чумного микроба (10^8 м. к./мл), мкл	25 $\overset{25}{\rightarrow}$	$\overset{25}{\rightarrow}$	$\overset{25}{\rightarrow}$	…	25 ↑	
Чумной антительный эритроцитарный диагностикум, мкл	25	25	25	…	25	25
Итоговое количество микробных клеток в лунке	125000	625000	312000	…	19531	
Инкубация при комнатной температуре (2 часа) или при 37°С (полчаса)						

Разведение, которое вызывает агглютинацию эритроцитов, сенсибилизированных специфическим антигеном, принимают за 1 СЕ (1 АЕ), а разведение в предшествующей лунке – за 2 СЕ (2 АЕ).

Для постановки РТНГА (РТПГА) в восемь лунок планшета вносят по 25 мкл разводящей жидкости, после чего с первой по седьмую титруют по 25 мкл исследуемого материала или сыворотки в разведении 1:10 и добавляют во все восемь лунок по 25 мкл специфической иммунной сыворотки активностью 8–16 СЕ или взвеси убитой культуры активностью 8–16 АЕ. Далее планшет выдерживают полчаса при 37°С и во все лунки добавляют по 25 мкл эритроцитарного диагностикума (антительного или антигенного соответственно). Схема метода для обнаружения антигена приведена в Табл. 33.7, для обнаружения антитела – в Табл. 33.8.

Учёт результатов проводят как для РНГА (РПГА). Если активность исследуемого материала (сыворотки) отсутствует или значительно снижена (на 4–5 лунок) относительно РНГА (РПГА), то результат РНГА (РПГА) признаётся специфичным.

Табл. 33.7. Схема постановки РТГА-Аг

Номер лунки / **Реагенты**	**1**	**2**	**3**	**…**	**7**	**Контроль диагностикума**
Разводящая жидкость (10%-ная нормальная кроличья сыворотка), мкл	25	25	25	…	25	25
Исследуемый материал в разведении 1:10, мкл	25 $\overset{25}{\rightarrow}$	$\overset{25}{\rightarrow}$	$\overset{25}{\rightarrow}$	…	25 ↑	
Специфическая иммунная сыворотка активностью 8–16 СЕ	25	25	25	…	25	25
Выдерживать полчаса при 37°С						
Чумной антительный эритроцитарный диагностикум, мкл	25	25	25	…	25	25
Инкубация при комнатной температуре (2 часа) или при 37°С (полчаса)						

Табл. 33.8. Схема постановки РТГА-Ат

Номер лунки / **Реактивы**	**1**	**2**	**3**	**…**	**7**	**Контроль диагностикума**
Разводящая жидкость (1%-ная нормальная кроличья сыворотка), мкл	25	25	25	…	25	25
Исследуемая сыворотка в разведении 1:10, мкл	25 $\overset{25}{\rightarrow}$	$\overset{25}{\rightarrow}$	$\overset{25}{\rightarrow}$	…	25 ↑	
Взвесь убитой культуры активностью 8–16 АЕ	25	25	25	…	25	25
Выдерживать полчаса при 37°С						
Чумной антигенный эритроцитарный диагностикум, мкл	25	25	25	…	25	25
Инкубация при комнатной температуре (2 часа) или при 37°С (полчаса)						

Аналогичным образом проводят *реакции латексной агглютинации*, в которых вместо эритроцитов применяют полистироловые или полиакролеиновые латексные частицы диаметром 1,2–1,8 мкм, а в качестве разводящей жидкости используют фосфатно-буферный раствор. Схемы методов и учёт результатов (Рис. 33.4) аналогичны как для РНГА (РПГА) и РТНГА (РТПГА).

В случае изучения объектов внешней среды в разводящую жидкость дополнительно добавляют белковый сенсибилизатор в разведении 1:100[1] и твин-80 в концентрации 1:80000.

Вернёмся к реакциям гемагглютинации. В исследуемых пробах крови могут содержаться антитела и антигены, которые могут влиять на результат описанных ранее реакций. Чтобы исключить действие антител или антигенов, применяют соответственно *реакцию*

[1] Способ приготовления: к 25 мл белка куриного яйца добавляют 75 мл дистиллированной воды и 1,25 г гидрокарбоната натрия, после чего перемешивают 10–15 минут, прогревают 40–60 минут при 56°С и фильтруют (см. RU 2198407 C2, 10.02.2003).

нейтрализации антигена (РНАг) и *реакцию нейтрализации антитела (РНАт)*. Суть этих реакций заключается в том, что добавленные антитела активностью 2 СЕ (или антигены активностью 2 АЕ) нейтрализует действие антигенов (антител), находящихся в пробе.

Для постановки в восемь лунок планшета вносят по 25 мкл разводящей жидкости, после чего с первой по седьмую титруют по 25 мкл исследуемого материала или сыворотки в разведении 1:10 и добавляют во все восемь лунок по 25 мкл специфической иммунной сыворотки активностью 2 СЕ или взвеси убитой культуры активностью 2 АЕ. Далее планшет выдерживают полчаса при 37°С и во все лунки дабавляют по 25 мкл эритроцитарного диагностикума (антительного или антигенного соответственно). Можно видеть, что описанная методика очень похожа на методику постановки РТНГА (РПНГА). Схема метода для обнаружения антигена приведена в Табл. 33.9, для обнаружения антитела – в Табл. 33.10.

Табл. 33.9. Схема постановки РТНГА-Аг

Номер лунки / **Реактивы**	**1**	**2**	**3**	**…**	**7**	**Контроль диагностикума**
Разводящая жидкость (10%-ная нормальная кроличья сыворотка), мкл	25	25	25	…	25	25
Исследуемый материал в разведении 1:10, мкл	$25 \overset{25}{\rightarrow}$	$\overset{25}{\rightarrow}$	$\overset{25}{\rightarrow}$	…	25 ↑	
Специфическая иммунная сыворотка активностью 2 СЕ	25	25	25	…	25	25
Выдерживать полчаса при 37°С						
Чумной антительный эритроцитарный диагностикум, мкл	25	25	25	…	25	25
Выдерживать при комнатной температуре (2 часа) или при 37°С (полчаса)						

Табл. 33.10. Схема постановки РТНГА-Ат

Номер лунки / **Реактивы**	**1**	**2**	**3**	**…**	**7**	**Контроль диагностикума**
Разводящая жидкость (1%-ная нормальная кроличья сыворотка), мкл	25	25	25	…	25	25
Исследуемая сыворотка в разведении 1:10, мкл	25 $\overset{25}{\rightarrow}$	$\overset{25}{\rightarrow}$	$\overset{25}{\rightarrow}$	…	25 ↑	
Взвесь убитой культуры активностью 2 АЕ	25	25	25	…	25	25
Выдерживать полчаса при 37°С						
Чумной антигенный эритроцитарный диагностикум, мкл	25	25	25	…	25	25
Выдерживать при комнатной температуре (2 часа) или при 37°С (полчаса)						

Если в исследуемом материале (сыворотке) содержатся антитела (антигены), то они нейтрализуют антигены активностью 2 АЕ (антитела активностью 2 СЕ) и уже не смогут агглютинировать антигены (антитела) диагностикума. Результат такой реакции будет отрицательным (пуговка). В обратной ситуации, когда в исследуемом материале (сыворотке) не содержатся антитела (антигены), добавляемые антигены активностью 2 АЕ (антитела активностью 2 СЕ) будут агглютинировать антигены (антитела) диагностикума и результат реакции будет положительным (зонтик). Таким образом, для реакций РНАг и РНАт положительным будет считаться отрицательный результат в лунке (пуговка) и, соответственно, валидной будет считаться реакция, в которой произошла агглютинация контроля.

Для характеристики эпизоотического процесса важно определить класс иммуноглобулинов в сыворотке крови или смывах, взятых по методике, описанной в Главе 29, для чего сыворотку крови обрабатывают равным объёмом 2-меркаптоэтанола, что приводит к разрушению дисульфидных связей в IgM и, как следствие, его дис-

социации на 6–8 мономеров, не проявляющих антительной активности (при этом IgG резистентны к действию вещества). Далее, постановка реакций гемагглютинации с сывороткой, обработанной 2-меркаптоэтанолом, и сывороткой, не обработанной им (парные сыворотки), позволяет определить суммарное количество антител и уточнить их класс. Это важно в первую очередь потому, что, как мы помним, в первые дни инфекционного процесса в крови обнаруживаются IgM и только потом IgG, поэтому обнаружение в исследуемой сыворотке IgM свидетельствует о незначительном времени, прошедшем со дня контакта животного с возбудителем чумы, и даёт основания для его выделения бактериологическим методом[1].

34 СТИВЕН

Посвящается Стивену – благородной мыши, пожертвовавшей собой ради того, чтобы автор отработал навыки работы с лабораторными животными

Постановка *биологической пробы*, то есть заражение лабораторного (биопробного) животного, является обязательной частью лабораторной диагностики особо опасных бактериальных инфекций, без которой порой невозможно выделить возбудитель и поставить верный диагноз. Хорошим примером здесь служит рассмотренный в Главе 20 случай менингеальной чумы у военнослужащего.

Содержатся лабораторные животные в *экспериментально-биологических клиниках* (*виварiях*), которые размещаются в отдельных зданиях либо в изолированных помещениях лабораторного корпуса, имеют отдельный вход и автономную систему вентиля-

[1] При обнаружении IgG выделение культуры чумного микроба маловероятно.

ции. При этом если виварий размещается не на первом этаже, то для него оборудуется отдельный лифт или лестница.

Как и в случае лаборатории, помещения вивария разделяются на две зоны: «чистую» и «грязную»[1]. Однако в отличие от лаборатории это разделение указывает только на «чистый» и «грязный» характер проводимых работ. Так, в «чистой» зоне располагаются помещения приёма, карантина и адаптации вновь поступивших из питомника чистых животных, помещения хранения чистого инвентаря (клеток, поилок, посуды) и кормов, помещения манипуляционной (например, для иммунизации), операционной и диагностический ветеринарный кабинет, тогда как в «заразной» зоне – помещения изоляторов, предназначенные для содержания подозрительных на заражение (или заражённых) животных, холодильное помещение для хранения трупов животных и иных отходов, помещение для мойки и дезинфекции оборудования и инвентаря, а также помещение для эвтаназии. При этом последние помещения располагаются на границе зон для обеспечения поточности. Чаще всего разграничение потоков обеспечивается *двухкоридорной планировкой*, при которой помещения вивария оказываются между двумя коридорами, однако возможна и *однокоридорная планировка*, при которой «чистые» и «заразные» зоны располагаются в разных концах коридора, а его использование регламентировано по времени.

Помещения, в которых содержатся животные, оборудуются приточно-вытяжной вентиляцией и клетками, обеспечивается контроль микроклимата, рацион кормления и график уборки, то есть создаются условия, обеспечивающие их комфортное содержание (Табл. 34.1).

Непосредственно работу с животными и пробами зоолого-паразитологического материала выполняют уже *в блоке для работы с инфицированными животными*, который располагают в «грязной» зоне вивария или «заразной» зоне лаборатории, отделяя от остальных помещений зоны предбоксом (двери блока дополнительно оборудуются порогом не менее 30 см).

[1] Обратите внимание на чёткую разницу в терминологии: «заразная» зона в случае лаборатории, но «грязная» – в случае вивария!

Табл. 34.1. Основные параметры условий для содержания лабораторных животных

Вид животного	Параметр			
	Температура, °С	Относительная влажность, %	Площадь клетки, см²	Высота клетки, см
Мыши	18–26	30–70	31–76	13
Крысы			110–390	18
Хомяки			65–105	16
Морские свинки			390–650	18
Кролики	16–22		1500–4000	36

В состав блока входят помещения для приёма животных из вивария и доставленных из очагов в виде трупов (при отсутствии вивария сюда же доставляют живых животных), помещения для заражения, содержания и вскрытия животных, а также помещения для обеззараживания инвентаря. Несложно догадаться, что, как и в случае лаборатории, блок подразделяют на **уровни безопасности животных** (ABSL; **A**nimal **Bio**safety **l**evel). Работу с животными, заражёнными (подозрительными на заражение) возбудителями особо опасных инфекций, выполняют в блоке **не ниже уровня 3** (ABSL-3), соблюдая принцип парности, в костюме I типа, дополненном высокими сапогами, прорезиненным фартуком и нарукавники. Помещения блока этого уровня оборудуются БМБ открытого типа для заражения, что позволяет операторам располагаться друг напротив друга, а также ламинарными станциями для ухода за животными и чисткой клеток. Заражённых животных содержат в помещениях, оборудованных вентиляционными системами с HEPA-фильтрами, чаще в виде стеллажей с клетками, подключенных к общей системе вентиляции блока.

Для работ с чумным микробом чаще всего используют белых мышей (*Mus albus officinarum*) или морских свинок (*Cavia porcellus*), при этом последние наиболее чувствительны к данной инфекции и поэтому предпочтительнее. Однако при выборе животного следует помнить, об *избирательной вирулентности* чумного микроба. Так, например, алтайские штаммы являются слабовирулент-

ными для морских свинок, тогда как для мышей они высоковирулентны. То же относится и к некоторым бесфракционным штаммам, которые, более того, будучи высоковирулентными для больших песчанок (*Rhombomys opimus*), оказываются слабовирулентными для краснохвостых (*Meriones libycus*) и гребенщиковых (*Meriones tamariscinus*) песчанок. Особенно показателен в этой связи опыт[1] иммунизации песчанки, которая погибла через 252 дня после заражения, при этом из её лёгких была выделена вирулентная культура, а из околопочечного абсцесса – слабовирулентная. Причины этого явления до конца не изучены, хотя среди возможных, например, выделяют некоторую атипичность плазмиды pCad у кавказских штаммов. Сходство некоторых её генов с генами аналогичной плазмиды *Y. enterocolitica* могут косвенно свидетельствовать о способности вносить изменения в процесс взаимодействия с организмом животного, приближая его к таковому у энтеропатогенных йерсиний.

В блок животные должны поступать подготовленными для соответствующей манипуляции: взвешенными, с выбритыми при необходимости участками тела.

Заражение производят в БМБ над подносом, в котором располагают салфетку, смоченную раствором дезинфектанта. Для снижения риска аварий (повреждения кожного покрова иглой) работу осуществляют два специалиста: один фиксирует (держит) животное, а другой заражает. Справа от заражающего в БМБ располагают контейнер с раствором дезинфектанта, а слева – необходимый инвентарь (поднос со шприцем, стакан с пинцетом, тампоны).

Важную роль во время заражения животного играет правильная его фиксация. Достают животное из клетки руками или корнцангом в зависимости от вида. Так, мышь достают за хвост, быстро ставя её лапками на поверхность для последующей фиксации. При этом не рекомендуется долго удерживать мышь за хвост (вниз головой), поскольку она может подтянуться и укусить. Крысу обычно берут со стороны спины, фиксируя рукой передние лапы. Похожим образом достают морскую свинку, но делают это аккуратно,

[1] Хрусцелевский В. П., Хрусцелевская Н. М. *О роли штаммов чумного микроба разной вирулентности в эпизоотии чумы*. Проблемы особо опасных инфекций. 1968; 4:186–193.

поскольку от испытываемого стресса она может умереть. Хомячка достают корнцангом, защипывая за холку, – даже в этом случае он может провернуться вокруг себя несколько раз.

Для фиксации животных средних размеров используют специальные приспособления, тогда как мелких чаще всего фиксируют руками. *Фиксация мыши* осуществляется путём захвата её одной рукой за холку, защипывающим движением, при котором ушки животного прижимаются большим и указательным пальцами. Другая рука продолжает удерживать хвост. Во время подачи мышь слегка растягивают. *Фиксация морской свинки* осуществляется путём захвата её одной рукой за спинку (под грудь), при этом большой и указательный пальцы охватывают шею, а остальные фиксируют конечности. Другой рукой удерживают заднюю часть тела, обездвиживая конечности. На практике обычно несколько отступают от этих правил, что при осуществлении заражения создаёт риск аварии (Рис. 34.1).



Рис. 34.1. *Фиксация морской свинки (сверху) и белой мыши (снизу), при которой создаётся угроза прокола*

Для введения жидкости через зонд мышь удерживают одной рукой за холку (как при обычной фиксации), а хвост прижимают мизинцем (Рис. 34.2). В случае морской свинки её удерживают головой вверх, прижимая спину к ладони.

Заражение методом втирания в кожу (австрийский метод). Данным методом пользуются в тех случаях, когда поступивший материал содержит много посторонней микрофлоры (загнивший труп, пробы поч-

вы). Для заражения у животного выбривается часть тела (у мышей участок 1 х 2 см, у морских свинок участок 2 х 3 см) и смачивается физиологическим раствором. Использовать раствор дезинфектанта строго запрещается, поскольку это может привести как к гибели микроорганизма, так и к лишнему стрессированию животного.



Рис. 34.2. *Фиксация мыши для введения чреспищеводного зонда*

При данном виде заражения крайне важно подавать животное строго горизонтально, чтобы исключить риск падения (скатывания) капель материала и его разбрызгивание. В зависимости от консистенции материал наносится на заранее скарифицированную кожу пипеткой, пинцетом или скальпелем, после чего аккуратно втирается плавными движениями тупой стороной скальпеля под прикрытием чашки Петри. Если наносимый материал является кусочком органа, то на кожу наносится либо его суспензия в физиологическом растворе, либо делается несколько отпечатков. Затем животное помещается обратно в клетку, а использованный инструментарий сбрасывается в контейнер с раствором дезинфектанта.

Подкожное заражение чаще всего осуществляют в паховую область. Для этого материал заранее набирают в шприц. Для удаления попавших пузырьков воздуха аккуратно двигают поршнем вперёд-назад, чтобы они переместились в район подыгольного конуса, после чего пинцетом на иглу накалывают небольшой стерильный бумажный пакетик с ватой или марлей, в который выгоняют воздух. Запрещается постукивать по цилиндру шприца или «спускать» воздух в контейнер с раствором дезинфектанта. Непосредственно перед заражением, когда мышь уже фиксирована напарником, пакетик снимают пинцетом и опускают в контейнер с раствором дезинфектанта. Этим же пинцетом берут тампон, смоченный физиологическим раствором, и протирают место инъек-

ции, после чего кладут его на руку напарника, чтобы после заражения не производить лишних движений. Защипывают пинцетом кожу животного в районе паха (в проекции лимфатического узла) и несколько оттягивают (приподнимают вверх) до образования треугольной складки (Рис. 34.3).

Шприц с материалом удерживают горизонтально и, не меняя положения, вводят иглу в центр складки, после чего надавливают на поршень шприца, вводя содержимое. Далее пинцетом берут тампон, накрывают им место инъекции и вытаскивают иглу из кожи. Животное помещают обратно в клетку, а в шприц набирают раствор дезинфектанта и сбрасывают его в контейнер.

Внутрибрюшинное заражение применяют для ускорения протекания инфекционного процесса, для чего животное, удерживаемое двумя руками, подаётся головой вниз, чтобы органы брюшной полости сместились к диафрагме. Обработав кожу тампоном, смоченным физиологическим раствором[1], защипывают пинцетом кожу животного в правой нижней стороне брюшка, отступая примерно 0,5–0,8 см от белой линии живота, и несколько оттягивают (приподнимают вверх) до образования треугольной складки. Шприц с материалом удерживают горизонтально и, не меняя положения, вводят иглу в основание складки, при этом ощущая прокол кожи и брюшины (ощущение провала иглы в пустоту). Далее надавливают на поршень шприца, вводя содержимое, после чего пинцетом берут тампон, накрывают им место инъекции и вытаскивают иглу из кожи. Животное помещают обратно в клетку, а в шприц набирают раствор дезинфектанта и сбрасывают его в контейнер.

В практике лабораторной диагностики чумы используются эти три метода. При этом чаще всего используется подкожное введение, тогда как внутрибрюшинно заражают для ускорения гибели, а накожно – когда имеется подозрение на содержание значительного

[1] В большинстве руководств указывается на необходимость обработки кожи спиртовым раствором, однако на практике целесообразнее использовать физиологический раствор, поскольку животные чистые и риск развития негативных последствий из-за пренебрежения правил асептики минимален, тогда как риск развития негативной реакции со стороны животного на запах спирта весьма велик, что может привести к его беспокойству и, как следствие, аварии.

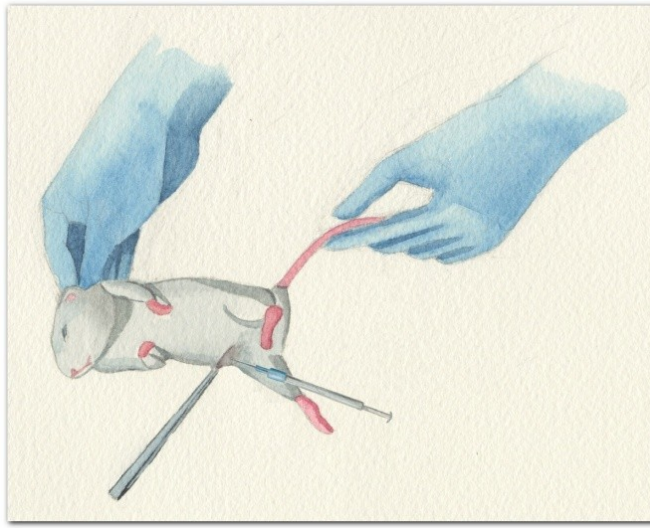


Рис. 34.3. *Подкожное заражение мыши*

количества посторонней микрофлоры. При подкожном методе заражения вводится 0,2 *мл* мышам и 0,5 *мл* – морским свинкам, а при внутрибрюшинном – 0,3–0,5 *мл* мышам и 0,5–1 *мл* морским свинкам. Если подозревают незначительное содержание возбудителя в материале, заражающую дозу увеличивают до 0,5–1 *мл* для мышей и 1,5–2 *мл* для морских свинок подкожно. Как правило, животные гибнут на 5–7 сутки. Если этого не произошло, их подвергают эвтаназии гуманным способом (чаще всего помещают в камеру с CO_2 или хлороформом).

Далее рассмотрим методы заражения, применяемые в исследовательской практике.

Внутривенное заражение. Для этого способа используют хвостовую (мышь), ушную (морская свинка), ярёмную (кошка, собака, морская свинка), бедренную (кошка, собака) вену или краевую вену уха (кролик). Место введения тщательно обрабатывают тампоном, смоченным физиологическим раствором, чтобы вызвать набухание вены, а в случае хвостовой вены некоторое время прогревают животное под лампой.



Рис. 34.4. *Внутривенное заражение мыши*

Фиксируют животное специальным приспособлением, либо, в случае мыши, накрывают тиглем таким образом, чтобы вне него располагался только хвост, который слегка натягивают (Рис. 34.4). Данный метод требует весьма точного попадания в вену, и редко у кого на этапе отработки навыков получается с первого раза. Если материал вводится мимо вены, область хвоста побелеет – в этой ситуации следует несколько подтащить иглу шприца на себя и «войти» в вену заново.

Внутрикожное заражение. Для данного метода заранее выбривают кожу и протирают место инъекции тампоном, смоченным физиологическим раствором. Иглу скосом наружу вводят под углом 10° в толщу поверхностного слоя кожи на несколько миллиметров. Материал вводят до тех пор, пока на коже в месте введения не появится бугорок.

Интраокулярное заражение (в конъюнктиву глаза). Жёстко фиксируют голову животного таким образом, чтобы глаз, в который предполагается осуществлять заражение, располагался строго горизонтально. Пинцетом аккуратно оттягивают нижнее веко у внутреннего угла глаза и с помощью пинцета на расстоянии не выше одного сантиметра над уровнем глаза наносят маленькую каплю на конъюнктиву глаза. Возвращают веко на место, а выступившие излишки материала промакивают тампоном, после чего его погружают в раствор дезинфектанта.

Размеры игл и максимально допустимые объёмы вводимой жидкости приведены в Табл. 34.2.

Табл. 34.2. Размеры игл и максимально допустимые объёмы вводимой жидкости в зависимости от вида лабораторного животного

Вид животного	Метод введения		
	внутривенно	**внутрибрюшинно**	**подкожно**
мышь	<25 G 0,2–0,5 мл	<23 G 0,5 мл	<23 G 0,5 мл
крыса	<23 G 0,5–2,5 мл	<23 G 5 мл	<23 G 5 мл
хомячок	<25 G 1 мл	<23 G 3 мл	<23 G 1–2 мл
морская свинка	<23 G 2,5 мл	<21 G 2,5 мл	<23 G 5 мл
кролик	<23 G до 30 мл	<20 G 30 мл	<20 G 30 мл

Павшие и подвергнутые эвтаназии животные подлежат патало-гоанатомическому исследованию (вскрытию), которое проводят в соответствующем помещении блока – вскрывочной (секционной).

Для вскрытия подготавливают подложку (чаще деревянную), на которой размещают салфетку, обильно смоченную раствором дезинфектанта, ватные шарики (3 штуки), иглы для фиксации животного, ёмкость (стакан) с 97%-ным раствором спирта, в которой помещаются ножницы и анатомический пинцет (хирургический может рвать нежные ткани органов), а также спиртовку, корнцанг и контейнер с раствором дезинфектанта. Перед началом работы следует особое внимание уделить ножницам, которые должны быть острыми и иметь закруглённые бранши, поскольку от этого зависит качество выполняемой работы.

Процесс вскрытия лабораторного животного (мыши) показан на схеме (Рис. 34.5), для наглядности дополненной фотографиями, и сводится к следующим этапам (номер этапа совпадает с номером на схеме и фотографиях):

1. с помощью корнцанга мышь укладывают на расположенную на подложке салфетку, смоченную раствором дезинфектанта, брюшком вверх, после чего фиксируют конечности, слегка растягивая позвоночник. Подготавливают три ватных шарика, смоченных раствором дезинфектанта: одним, с помощью пинцета, обильно протирают место вскрытия (брюшко животного); вторым, сложенным в виде лодочки, прикрывают отверстие мочеиспускательного канала и используют для укладки в него извлекаемых органов; третий используют для очистки инструментария (пинцета и ножниц) от крови и шерсти животного;
2. обрабатывают инструментарий фламбированием (окунают в ёмкость с 97%-ным раствором спирта и обжигают в пламени горелки; во избежание возгорания спирта в ёмкости следует размещать спиртовку на расстоянии), после чего в районе лобкового сочленения приподнимают кожу и делают надрез ножницами. Далее бранши ножниц в сомкнутом виде вводят в пространство между кожей и брюшной стенкой по проекции средней линии до грудины и выводят, аккуратно размыкая их и смыкая таким образом, чтобы кожа отделилась от брюшной стенки;
3. обрабатывают ножницы фламбированием и разрезают ими кожу по типу конверта (синяя линия) или фартука (красная линия), после чего её отгибают. На данном этапе оценивается состояние лимфатических узлов;
4. обрабатывают ножницы фламбированием и разрезают брюшную стенку, повторяя операции этапов 2 и 3.
5. оценивают состояние внутренних органов. При наличии общего токсического поражения органов брюшной полости (5*) дальнейшая оценка органов не представляется возможной;
6. при необходимости разрезают предварительно фламбированными ножницами грудную клетку (перекусив ножницами шейные позвонки, можно петлёй по позвоночному каналу взять образцы мозга).

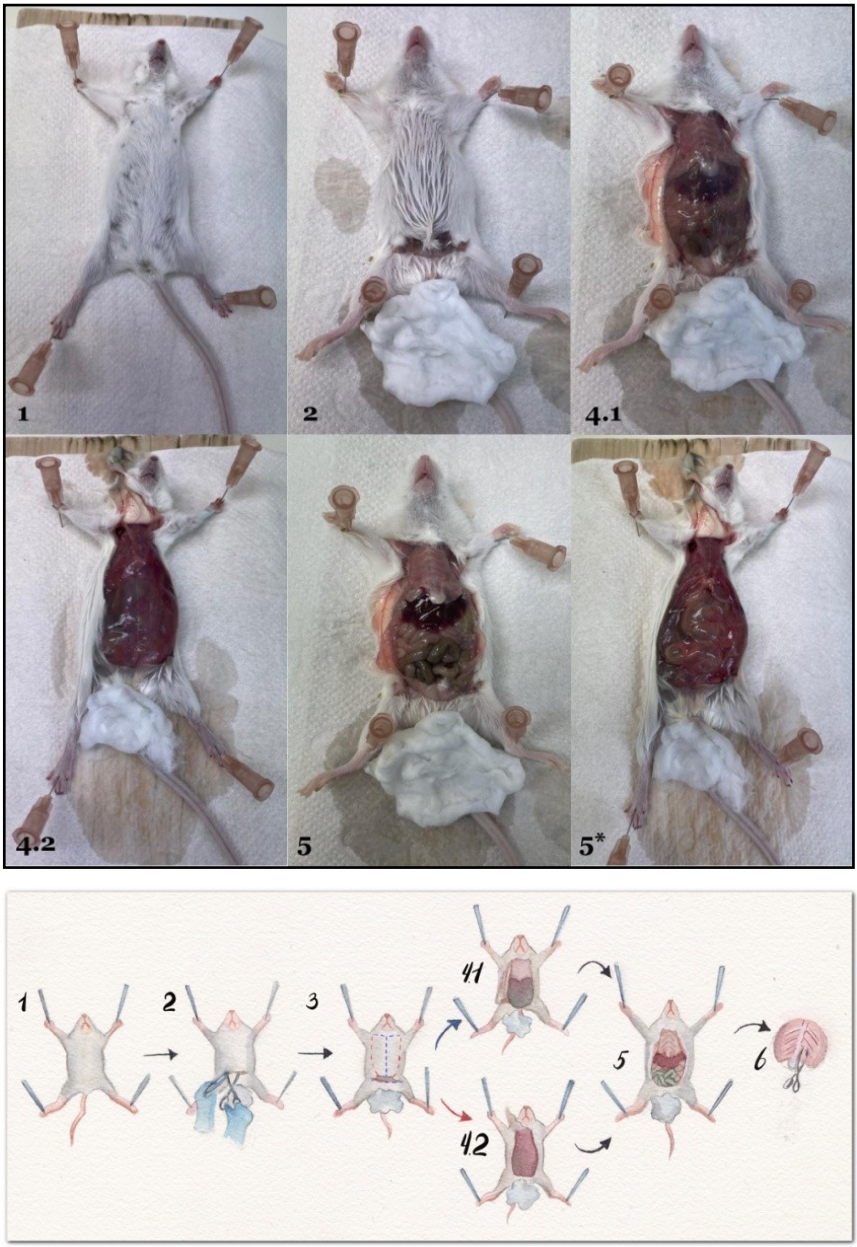


Рис. 34.5. *Процесс патологоанатомического исследования лабораторного животного (мыши)*

У животных, погибших от чумы при накожном или подкожном заражении (а также погибших от бубонной формы чумы в результате естественного заражения), в месте введения материала (в месте заражения) обнаруживаются полнокровие, серозное пропитывание тканей, возможны нагноение и некроз. Возможен слизистый отёк подкожной клетчатки, чаще локализующийся только в месте подкожного введения. Паховый лимфатический узел (реже оба) увеличен, гиперемирован, плотный или размягчённый, пропитан студневидной серозно-геморрагической жидкостью. Крайне редко поражён ипсилатеральный (т. е. располагающийся на этой же стороне) подмышечный лимфатический узел (Рис. 7.12). При внутрибрюшинном заражении в брюшной полости обнаруживается слизисто-гнойный экссудат, увеличение и уплотнение мезентериальных и парааортальных лимфатических узлов. При интраокулярном заражении в первую очередь поражаются шейные лимфатические узлы.

При всех способах заражения в селезёнке, печени и лёгких обнаруживаются узелки серовато-белого цвета, размер которых может варьироваться от еле заметных до крупных. Количество их также непостоянно (Рис. 34.6). Помимо этого, в печени могут обнаруживаться участки дегенеративного перерождения желтоватого цвета (*глинистая печень*). Органы увеличены, местами обнаруживаются участки некроза, в лёгких могут быть очаги кровоизлияния с уплотнениями. Сердце может быть увеличено, а его сосуды – резко инъецированы. То же и с сосудами брюшной полости (особенно брыжейки). Крайне редко в брюшной полости обнаруживается мягкий экссудат.

Для посевов на плотные питательные среды и отпечатков на стекле (с целью последующих окраски и микроскопирования) используют селезёнку, печень, сердце (кровь), лёгкие и реже головной и костный мозг. Для этого используют предварительно фламбированные и тщательно остуженные пинцет и ножницы: от удерживаемого пинцетом органа отрезается ножницами фрагмент и свежим срезом делается несколько отпечатков по агару или стеклу. На агар, разделённый на сектора, обычно делают по два-три отпечатка с последующим рассеиванием. На стекло делают *один отпечаток печени, два отпечатка лёгких, три отпечатка селезёнки, четыре отпе-*



Рис. 34.6. *Патологические изменения внутренних органов мыши (слева) и морской свинки (справа, заражение бесфракционным штаммом). Стрелкой отмечен лимфатический узел, в нижнем квадрате – селезёнка. Обратите внимание на еле различимые узелки на селезёнке мыши и огромные узлы на селезёнке морской свинки (изображение слева по Вагайская А. С., 2021, справа любезно предоставлено Татьяной Евгеньевной Арсеньевой)*

чатка лимфатического узла и кровь отпечатывают одной полосой, после чего помещают стёкла в фиксирующую жидкость на полчаса и окрашивают[1] (Рис. 34.7).

[1] Помимо способов окраски, рассмотренных в Главе 30, можно применить окраску, предложенную российским и советским врачом Сергеем Николаевичем Муромцевым (1898–1960). Разработанная в рамках диагностики бешенства у животных (окрашивания мазков-отпечатков головного мозга), по утверждению Николая Ивановича Розанова, она удобна для исследования мазков-отпечатков органов биопробных животных при бактериальных инфекциях, поскольку позволяет отчётливо визуализировать биполярность и капсулы. Для этого мазки полчаса фиксируют в растворе этилового спирта с формалином в концентрации 8:2, после чего окрашивают заранее приготовленной краской через фильтровальную бумагу 30 секунд и обильно промывают дистиллированной водой. Фон препарата окрашивается в розовый цвет, а ткани и микробные клетки в оттенки синего. Для приготовления краски смешивают два раствора (раствор 1: к 20 мл 96%-ного раствора этилового спирта добавить 0,15 г четырёхводного фуксина (фуксина основного) и 10 г кристаллической карболовой кислоты; раствор 2: к 200 мл дистиллированной воды добавить 2,5 г метиленового синего), после чего смесь профильтровывают через двойной бумажный фильтр.

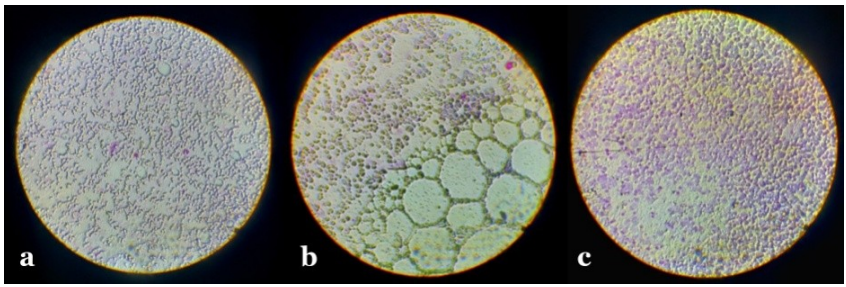


Рис. 34.7. *Мазки-отпечатки печени (a), селезёнки (b) и лимфатического узла (c). Сравните их с гистологическими срезами этих органов, приведёнными в Главах 7, 8, 11–14*

В том случае, если при прямом посеве материала нет роста культуры чумного микроба, а биопробное животное погибло, из его органов делают суспензию, которую сеют на питательные среды и вводят второму животному. Патологоанатомическое исследование второго животного проводят аналогично исследованию первого.

После завершения исследования при помощи пинцета ватные диски помещают на животное, снимают фиксаторы с конечностей и заворачивают углы салфетки конвертиком. В этот важный момент будет не лишним ненадолго задержаться, чтобы *мысленно поблагодарить животное, погибшее ради спасения человеческих жизней*. Затем обёрнутое в салфетку животное с помощью пинцета помещается в контейнер для последующего обеззараживания и сжигания в крематории. Салфеткой, смоченной в растворе дезинфектанта, обрабатывается подложка (с обеих сторон) и поверхность стола, на которой она размещалась.

Следует заметить, что в очаге, особенно когда необходимо вскрыть достаточное количество животных, прибегают к сокращённому методу вскрытия: укладывают мышь на правый бок, разрезают кожу и брюшную стенку по дуге и извлекают селезёнку для оценки её состояния и дальнейшего изучения (Рис. 34.8).

Для ускоренной постановки диагноза одновременно заражают несколько мышей и морских свинок, последовательно умерщвляя по одному животному на первые, вторые и третьи сутки, производя патологоанатомическое исследование. Посевы осуществляют на две



Рис. 34.8. *Последовательность патологоанатомического исследования в сокращённом виде (слева направо)*

плотные питательные среды, чтобы на одной из них поставить пробы с бактериофагом. Особое внимание уделяют посевам из лимфатических узлов.

Помимо этого, ускорить постановку диагноза может снижение резистентности животных к чуме, для чего применяют эмульсию желтка куриного яйца (один желток разводится в 8 мл физиологического раствора), вводимую одновременно с исследуемым материалом из расчета 0,5 мл для мыши и 1 мл для морской свинки, а также гидрокортизон (5 мг на 0,5 мл физиологического раствора), который вводят подкожно в область бедра.

Ускорить постановку диагноза можно и *методом антигенурии*, при котором прижизненно (примерно на вторые-третьи сутки)

животным определяют содержание капсульного антигена в моче с помощью реакций гемагглютинации, описанных в предыдущей главе. Для этого животному в рацион добавляют морковь и капусту, а на дно клетки выстилается два листа фильтрровальной бумаги, которые ежедневно меняются. Участки с пятнами мочи вырезаются и заливаются 4–6 мл фосфатного буфера (0,1 моль/л) с 2%-ным раствором формалина. Через сутки содержимое уплотняется и надосадочная жидкость передаётся на исследование.

35 АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ

Определение чувствительности к антибиотикам выделенной культуры является важным этапом лабораторной диагностики, поскольку позволяет назначить рациональную этиотропную терапию, а также, в случае угрожающей эпидемической обстановки, быть готовым к лечению и профилактике. Особенную важность этому этапу придёт существование антибиотикорезистентных штаммов чумного микроба, о которых много говорилось ранее.

В начале 1960-х годов прошлого века Альфред Ба́уэр[1], Уи́льям Ки́рби[2], Джон Ше́ррис[3] и Ма́рвин Тёрк[4] разработали[5] метод определения чувствительности бактерий к антибиотикам, основанный на способности антибиотиков диффундировать из бумажного носителя (диска) в твёрдую питательную среду (Рис. 35.1), подавляя рост посеянной бактериальной культуры. И хотя похожие методы

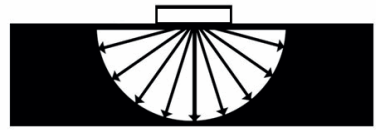
[1] Alfred W. Bauer, 1926–1998; германский и американский врач, бактериолог. В годы Второй мировой войны был нацистским солдатом, после чего, закончив институт в Германии, переехал в США для обучения в аспирантуре.

[2] William M. M. Kirby, 1914–1997; американский врач, бактериолог.

[3] John Charles Sherris; 1921–2021; британский и американский врач, бактериолог.

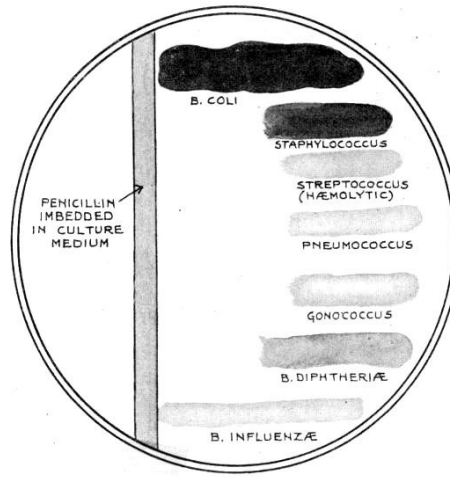
[4] Marvin Turck, p. 1934; американский врач, инфекционист, бактериолог. Автор работ по инфекциям мочевыводящих путей и антибиотикорезистентности у грамотрицательных бактерий.

[5] Bauer A. W., Kirby W. M. M., Sherris J. C., Turck M. *Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method*. Am J Clin Pathol. 1966; 36:493–496.



▲ ***Рис. 35.1.*** *Схема процесса дифундирования антибиотика из диска в толщу питательной среды*

▼ ***Рис. 35.2.*** *Рисунок чашки Петри, в которой Александр Флеминг проверял антибиотические свойства открытого им пенициллина (по Fleming A., 1929; публикуется по лицензии Всемирной организации здравоохранения)*



были известны со времён открытия пенициллина (Рис. 35.2), именно этот, названный *диско-диффузионным* (disk diffusion test) или *методом Кирби – Бауэра* (Kirby-Bauer test), является первым стандартизованным Всемирной организацией здравоохранения и наиболее распространённым ввиду своей простоты и гибкости (возможность исследования широкого спектра антибиотиков, в любых комбинациях).

Суть метода заключается в нанесении дисков с антибиотиками на агар, куда предварительно была засеяна тестируемая культура «сплошным газоном». Для этого предварительно автоклавированный и остуженный до 48–50°C питательный агар разливают по

25 мл в чашки Петри диаметром 100 мм или по 20 мл в чашки диаметром 90 мм, чтобы толщина агара составляла примерно 4 мм, после чего оставляют для застывания при комнатной температуре. После высушивания чашки рекомендуется использовать немедленно или в течение суток, при условии хранения при 4–8°C. Непосредственно перед работой их подсушивают в течение 15 минут при 37°C, чтобы избежать образования конденсата.

В качестве среды чаще всего используют агар Мюллера – Хинтон (Mueller – Hinton agar), разработанный[1] в 1941 году Джо́ном Мю́ллером[2] и Джейн Хинтон[3] и принятый в качестве «золотого стандарта» для этого метода. Также используют агар Хоттингера (1,2–1,4 г/л аминного азота, pH 7,0–7,4) и Гивенталя – Ведьминой (pH 7,2–7,6). Последний был разработан[4] в 1980 году Наумом Иосифовичем Гивента́лем[5] и Еленой Алексеевной Ве́дьминой[6] (с колл.). Для исследования чувствительности к ингибиторам системы секреции III типа (например, имидокарба дипропионату) предложено[7] использовать магний-оксалат агар (MOX, от англ. **m**agnesium **o**xalate **a**gar).

Диски с антибиотиками используются коммерческого производства и хранятся при −18°C (используемые в работе обычно хранят при 4–8°C). За час до работы флаконы с дисками вытаскивают из холодильника, чтобы не допустить попадания влаги из-за резкой смены температур во время открытия. Суспензию из суточной

---

[1] Mueller J. H., Hinton J. *A Protein-Free Medium for Primary Isolation of the Gonococcus and Meningococcus*. Experimental Biology and Medicine. 1941; 48(1): 330–333; DOI: 10.3181/00379727-48-13311.

[2] John Howard Mueller, 1891–1954; американский биохимик, бактериолог. Член Национальной академии наук США (1945). Автор работ по бактериальному метаболизму,

[3] Jane Hinton, 1919–2003; американский ветеринарный врач (одна из первых афроамериканок). Во время разработки агара работала лаборантом в Гарвардском университете.

[4] Гивенталь Н. И., Ведьмина Е. А., и др. *Об унификации методов определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам. Полуколичественная и количественная оценка результатов диффузионного теста*. Антибиотики. 1980; 6:420–424.

[5] 1923–?; советский врач, бактериолог.

[6] Советский врач, бактериолог.

[7] Prashar S., Guemes M. P., et al. *Novel disk diffusion assay on magnesium oxalate agar to evaluate the susceptibility of Yersinia pestis to type III secretion system inhibitors*. Microbiol Spectr. 2021; 9(1):e0000521; DOI: 10.1128/Spectrum.00005-21.

культуры чумного микроба в 0,85%-ном изотоническом растворе хлорида натрия (5 х 10^8 м. к./мл) по 2 мл наносят на агар и равномерно распределяют шпателем. Через 10–15 минут, когда агар подсохнет, с помощью пинцета [1] или автоматического диспенсера (Рис. 35.3) накладывают диски с антибиотиками на расстоянии не менее 15–20 мм между дисками и краями чашки (обычно не более 6 дисков на чашку диаметром 100 мм), слегка придавливая диски к агару. Чашку с дисками, а также засеянную чашку без дисков (контроль роста культуры) инкубируют при 28°С. Предварительный учёт результатов проводят через 24 часа, а окончательный – через 48 часов, при учёте характерного роста культуры на контрольной чашке.

Учёт результатов осуществляют путём измерения диаметра зон ингибирования (Рис. 35.4) и сравнения их с пограничными значениями, приведёнными в Табл. 35.1. Для этого чашки помещают на тёмную поверхность вверх дном, направляя луч света под углом 45°.

Появление небольших колоний в зоне ингибирования может свидетельствовать как о присутствии посторонней микрофлоры (контаминации), так и о гетерогенности исследуемой культуры (наличие в колонии чувствительных и нечувствительных клеток). В этой ситуации повторяют исследование с чистой культурой (контроль чистоты) и с выросшими в зоне ингибирования колониями.

Следует добавить, что перед использованием новой партии диски проверяют с помощью референс-штаммов[2] (Табл. 35.2) на среде Мюллера – Хинтон, поскольку диски, дающие меньшие или большие диаметры зон ингибирования, чем это установлено для референс-штаммов, подлежат выбраковыванию (их использование может привести к получению невалидных результатов). Особенно опасна ситуация, когда бракованный диск даёт большую зону ин-

[1] После нанесения каждого диска его следует несколько утопить в среде, а пинцет – фламбировать, чтобы не допустить вынос культуры из чашки.

[2] В качестве референс-штаммов (тест-штаммов) используют типичные штаммы с хорошо изученными свойствами, отличающиеся генетической стабильностью. В случае определения чувствительности к антибиотикам используют штамм *Y. pestis* EV НИИЭГ, а также для внутреннего контроля качества определения антибиотикограммы – штамм *E. coli* ATCC 25922.

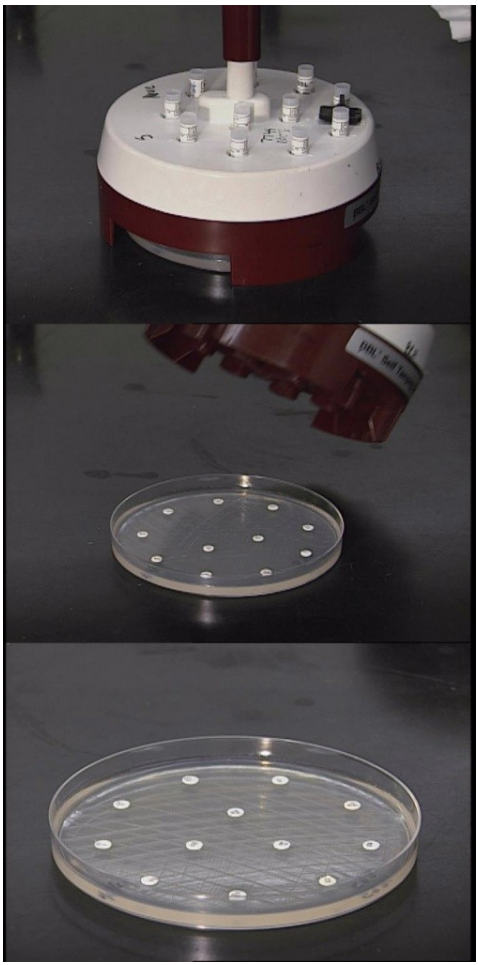


Рис. 35.3. *Процесс нанесения дисков с антибиотиками на агар с помощью автоматического диспенсера*



Рис. 35.4. *Чашка с зонами ингибирования. Обратите внимание, что вокруг некоторых дисков с антибиотиками зона ингибирования меньше или вовсе отсутствует, что свидетельствует о частичной или полной резистентности исследуемой культуры к некоторым антибиотикам*

гибиции, поскольку в этой ситуации имеется риск отнесения резистентного штамма к чувствительному.

Из всех существующих на сегодняшний день методов определения чувствительности бактерий к антибиотикам в случае возбудителей особо опасных бактериальных инфекций, помимо диско-диффузионного метода, применяют только *метод серийных разведений* (МСР), позволяющий определить *минимальную подавляющую концентрацию* (МПК) препарата за счёт внесения его известного количества в питательную среду.

Важным этапом для данного метода является приготовление основного раствора антибиотика, пригодного для хранения, и рабоче-

го, который сразу будет использован для приготовления питательных сред. При этом допустимо использовать как жидкие, так и твёрдые питательные среды, но на практике применяют только твёрдые.

Для основного раствора используют субстанции с известной активностью (в экстренной ситуации допустимо использовать препараты, предназначенные для инъекций), которые взвешивают на аналитических весах с точностью до четвёртого знака и вносят в растворитель. Расчёт массы препарата (навески) осуществляют по формуле:

$$m_p = \frac{C \cdot V}{K_A}, [мг],$$

где С – необходимая концентрация препарата, мкг/мл; V – объём растворителя, мл; K_A – активность препарата (количество активного вещества, содержащееся в используемой субстанции), мкг/мл.

На практике взвесить точное расчетное количество вещества невозможно, поэтому, по традиции аналитической химии, готовят навеску, близкую к расчётной, и пересчитывают необходимый объём растворителя по формуле:

$$V_n = \frac{m_n \cdot V_m}{m_p}, [мл],$$

где m_n – практическая масса препарата (навески), мг; m_p – расчётная масса препарата (навески), мг; $V_т$ – объём растворителя, взятый для растворения расчётной навески, мл.

Следует отметить, что для ряда антибиотиков растворителем будут являться два вещества: солюбилизатор и разбавитель (Табл. 35.4). В таком случае препарат растворяют в минимальном объёме солюбилизатора и разводят до необходимого объёма разбавителем.

Табл. 35.4. Растворители для антибиотических препаратов

Препарат	Растворитель	
	солюбилизатор	**разбавитель**
Хлорамфеникол	95%-ный раствор этилового спирта	дистиллированная вода
Рифампицин	метиловый спирт	дистиллированная вода
Сульфаниламиды	половина объёма горячей дистиллированной воды и минимальное количество раствора NaOH (2,5 моль/*л*)	дистиллированная вода
Триметоприм	раствор соляной кислоты (0,05 моль/*л*) до 10% от конечного объёма	дистиллированная вода
Ампициллин	фосфатный буфер (0,1 моль/*л*; pH 8)	фосфатный буфер (0,1 моль/*л*; pH 6)
Нитрофурантоин	фосфатный буфер (0,1 моль/*л*; pH 8)	
Норфлоксацин	половина объёма дистиллированной воды и по каплям добавить раствор NaOH (0,1 моль/*л*) до растворения	дистиллированная вода
Офлоксацин		
Налидиксовая кислота[1]		
Остальные	дистиллированная вода	

Для приготовления рабочих растворов, из основного путём титрования получают нужные концентрации, используя в качестве растворителя дистиллированную воду. Вместе с тем если используются препараты в фасованном виде (ампулы, флаконы, таблетки), то приготовить рабочие растворы можно следующим образом.

В случае *жидкой формы* препарат растворяют в известном объёме дистиллированной воды. Например, если имеется флакон, содержащий 5 г вещества, то растворением его в 5 мг дистиллированной

[1] Данный препарат не применяется для лечения чумы, однако штаммы чумного микроба проверяются на чувствительность к нему, поскольку устойчивость культуры к налидиксовой кислоте может сопровождаться снижением эффективности лечения фторхинолонами при сохранении к ним чувствительности на чашке.

воды получим раствор концентрацией 100000 мкг/мл. Далее, путём титрования можно получить растворы концентрацией 10000 мкг/кг, 1000 мкг/кг и так далее. В случае растворения в солюбилизаторе и разбавителе объём разделяют. Так, например, если имеется капсула налидиксовой кислоты, то её содержимое (500 мг) вносят в 25 мл дистиллированной воды. Затем по каплям добавляют раствор гидроксида натрия (0,1 моль/л) до полного растворения препарата и приливают 25 мл дистиллированной воды, получая таким образом раствор концентрацией 10000 мкг/мл.

В случае *твёрдой формы* препарат размельчают до порошкообразного состояния и растворяют в известном объёме дистиллированной воды, учитывая поправочный коэффициент, равный отношению общей массы препарата к массе активного вещества. Например, если в таблетке массой 375 мг содержится 250 мг активного веществ, то поправочный коэффициент будет равен 1,5 (375 : 250). Тогда для приготовления раствора концентрацией 10000 мкг/мл необходимо 15 мг порошка, полученного из таблетки, растворить в 1 мл дистиллированной воды. В случае комбинированных препаратов (например, ко-тиметоприма) расчёт ведут по основному веществу (в данном случае триметоприму).

Далее готовят чашки Петри с предварительно автоклавированным и остуженным до 48–50°С питательным агаром, в который добавлены антибиотики, в двукратно увеличивающихся концентрациях. Для этого в стерильные флаконы наливают по 20 мл агара и добавляют в них необходимое количество рабочих растворов (Табл. 35.5), начиная с наименьшей концентрации, после чего тщательно перемешивают и выливают в чашку.

С другой стороны, к 18 мл агара можно прилить по 2 мл рабочего раствора антибиотика в заранее приготовленных серийных разведениях, тщательно перемешать и вылить в чашки Петри. Таким образом конечная концентрация препарата в агаре будет в 10 раз меньше, чем концентрация вносимых серийных разведений рабочего разведения.

Табл. 35.5. Концентрации антибиотических препаратов, добавляемых в питательный агар

Необходимая концентрация препарата в 1 мл агара, мкг/мл	**Концентрация препарата в рабочем растворе, мкг/мл**	**Количество рабочего раствора, которое необходимо внести в 20 мл агара, мл**
0,06	10	0,12
0,125		0,25
0,25		0,5
0,5	100	0,1
1		0,2
2		0,4
4		0,8
8	1000	0,16
16		0,32
32		0,64
64	10000	0,128
128		0,256
256		0,512
Примечание: Для приготовления растворов препаратов в концентрациях 1000 мкг/мл и 10000 мкг/мл применяют димексид или 26%-ный раствор этилового спирта.		

После высушивания чашки рекомендуется использовать немедленно или в течение суток, при условии хранения при 4–8°С. Непосредственно перед работой их подсушивают в течение 15 минут при 37°С, чтобы избежать образования конденсата. В качестве среды чаще всего используют агар Мюллера – Хинтон и реже агар Хоттингера.

Суспензию из суточной культуры чумного микроба в 0,85%-ном изотоническом растворе хлорида натрия (5×10^8 м. к./мл) наносят по каплям лёгким касанием пипетки (примерно 0,005 мл) на поверхность агара, начиная с наименьшей концентрации. Таким образом можно изучить до 20 штаммов (в том числе включить контрольный штамм, МПК для которого известны). Затем, через 10–15 минут, когда агар подсохнет, чашки (в том числе чашку без антибиотика для контроля роста культуры) инкубируют при 28°С. Предварительный учёт результатов проводят через 36 часов, а

окончательный – через 48 часов, при учёте характерного роста культуры на контрольной чашке. Учёт результатов осуществляют путём сравнения минимальной концентрации препарата, подавляющей рост возбудителя (т. е. МПК), с пограничными значениями, приведёнными в Табл. 35.1.

Как и в случае с дисками, препараты подлежат тестированию с помощью референс-штаммов на среде Мюллера – Хинтон.

По итогам тестирования обоими методами исследуемый микроорганизм относят к одной из категорий категории:

чувствительный, то есть применение антибиотика в рекомендуемых дозах приведёт к подавлению роста и размножения штамма;

промежуточный, то есть применение антибиотика приведёт к подавлению роста и размножения штамма только при максимально допустимых дозах, при этом не исключается отбор вариантов возбудителя, для которых даже максимальные дозы окажутся неэффективными;

устойчивый, то есть применение антибиотика в рекомендуемых дозах не приведёт к подавлению роста и размножения штамма, и, следовательно, использование этого антибиотика для лечения недопустимо.

Важно помнить, что клинически ориентированные категории чувствительности и проверенная устойчивость к антибиотикам не всегда коррелируют. Поэтому, даже если есть улучшение на фоне назначенной терапии, через двое-трое суток необходим бактериологический контроль эффективности этиотропной терапии (посев, биопроба).

Табл. 35.1. Допустимые диаметры зон подавления роста и значения МПК для исследуемой культуры

Препарат	ДДМ			МСР	
	Содержание в диске, мкг	Диаметр зон подавления роста, мм		Значение МПК, мкг/мл	
		S	R	S	R
Стрептомицин	30	≥18	≤13	≤16	≥64
Канамицин					
Амикацин		≥17	≤14		
Гентамицин	10			≤4	≥16
Нетилмицин	30	≥19			
Тобрамицин	10	≥17		≤8	≥32
Тетрациклин	30	≥19		≤4	≥16
Доксициклин	10				
Левомицетин	30				
Рифампицин	5	≥15	≤13		≥32
Ампициллин	10	≥19	≤14	≤8	
Цефтриаксон	30	≥25	≤20	≤1	≥4
Цефотаксим					
Цефтибутен					
Цефтазидим					
Цефиксим	5				
Цефепим	30				
Азтреонам		≥23	≤17		≥8
Налидиксовая кислота		≥25	≤20	≤8	≥32
Ципрофлоксацин	5		≤19	≤0,1	≥1
Офлоксацин					
Пефлоксацин	10	≥22	≤17	≤0,2	≥2
Ломефлоксацин				≤0,1	≥1
Левофлоксацин	5				
Ко-триметоприм	1,25/23,75	≥21	≤16	≤2/38	≥8/152

Примечание:
S – чувствительный, R – устойчивый. Значения МПК и диаметров зон между S и R свидетельствуют о промежуточной категории

Табл. 35.2. Допустимые диаметры зон подавления роста для контрольных штаммов

Препарат	Содержание в диске, мкг	Диаметр зон подавления роста, мм					
		Мюллера – Хинтон агар		Агар Хоттингера		Гивенталя – Ведьминой агар	
		E. coli ATCC 25922	*Y. pestis* EV НИИЭГ	*E. coli* ATCC 25922	*Y. pestis* EV НИИЭГ	*E. coli* ATCC 25922	*Y. pestis* EV НИИЭГ
Стрептомицин	30	17–25	17–23	17–25	19–25	17–25	19-26
Канамицин			18–23				
Амикацин		19–26	19–23	19–26	20–26	19–26	20–30
Гентамицин	10		20–27		22–27		25–30
Нетилмицин	30	22–30	25–30	22–30	25–30	22–30	30–40
Тобрамицин	10	18–26	18–26	18–26		18–26	25–33
Тетрациклин	30	18–25	20–27	18–25	20–27	18–25	20–27
Доксициклин	10	18–24		18–24		18–24	
Левомицетин	30	21–27	25–33	21–27	25–33	21–27	25–33
Рифампицин	5	8–10	15–22	8–10	15-20	8–10	15–20
Ампициллин	10	16–22	23–28	16–22	23–28	13–20	25–33
Цефтриаксон	30	29–35	30–40	29–35	30–40	29–35	30–40
Цефотаксим							
Цефтибутен		27–35		27–35	35–45	27–35	
Цефтазидим		25–32	28–35	25–32	30–35	25–32	30–35
Цефиксим	5	23–27		23–27		23–27	
Цефепим	30	31–37	31–40	31–37	31–40	31–37	31–37
Азтреонам		28–36	29–37	28–36	30–36	28–36	30–35
Налидиксовая кислота		22–28	28–35	22–28	30–35	22–28	28–35
Ципрофлоксацин	5	30–40	30–35	30–40		30–40	30–35
Офлоксацин		29–33	29–35	29–33	30–35	29–33	29–35
Пефлоксацин	10	28–35		28–35	29–35	28–35	30–35
Ломефлоксацин		27–33	30–37	27–33	30–37	27–33	30–37
Левофлоксацин	5	29–37	30–40	29–37	30–40	29–37	30–40
Ко-триметоприм	1,25/23,75	23–29	23–28	23–29	23–28	23–29	23–28

Табл. 35.3. Допустимые значения МПК для контрольных штаммов

Препарат	Диапазон значений МПК, мкг/мл			
	Мюллера – Хинтон агар		Агар Хоттингера	
	E. coli АТСС 25922	*Y. pestis* EV НИИЭГ	*E. coli* АТСС 25922	*Y. pestis* EV НИИЭГ
Стрептомицин	1–4	2–8	1–4	1–8
Канамицин				2–8
Амикацин	0,5–4,0		0,5–4,0	
Гентамицин	0,25–1,0	0,25–2,0	0,25–1,0	0,25–1,0
Нетилмицин				
Тобрамицин		0,5–2,0		
Тетрациклин	0,5–2,0		0,5–2,0	0,5–2,0
Доксициклин		0,25–1,0		0,25–1,0
Левомицетин	2–8	1-4	2–8	1–4
Рифампицин	4–16		4–16	
Ампициллин	2–8	0,5–1,0	2–8	0,5–1,0
Цефтриаксон	0,03–0,12	0,01–0,02	0,03–0,12	0,01–0,02
Цефотаксим				
Цефтибутен	0,12–0,5		0,12–0,5	
Цефтазидим	0,06–0,5	0,02–0,08	0,06–0,5	0,02–0,08
Цефиксим	0,25–1,0	0,08–0,16	0,25–1,0	0,08–0,16
Цефепим	0,016–0,12	0,02–0,04	0,016–0,12	0,02–0,04
Азтреонам	0,06–0,25	0,01–0,02	0,06–0,25	0,01–0,02
Налидиксовая кислота	1–4	0,5–2,0	1–4	0,5–2,0
Ципрофлоксацин	0,004–0,016	0,01–0,02	0,004–0,016	0,01–0,02
Офлоксацин	0,015–0,12	0,005–0,01	0,015–0,12	0,005–0,01
Пефлоксацин	0,03–0,12	0,02–0,08	0,03–0,12	0,02–0,08
Ломефлоксацин		0,01–0,08		0,01–0,08
Левофлоксацин	0,008–0,06	0,005–0,01	0,008–0,06	0,005–0,01
Ко-триметоприм	0,5/9,5–2/38	1/19–2/38	0,5/9,5–2/38	1/19–2/38

36 МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Исследования[1] Джéймса Уóтсона[2], Фрэ́нсиса Крúка[3], Мóриса Уúлкинса[4] (колл.) и Розали́нд Фрáнклин[5] (с колл.) позволили в 1953 году расшифровать структуру ДНК, что дало мощный толчок развитию молекулярной биологии и созданию молекулярно-генетических методов исследования. Так, в 1971 году Хьéлль Клéппе[6] (с колл.) опубликовал статью[7], в которой предложил процесс репликации сегмента ДНК с помощью двух синтетических праймеров, назвав это *репарационной репликацией*. Однако его разработка не получила должного внимания со стороны научного сообщества, поэтому метод, который позволяет многократно последовательно удваивать исходный фрагмент молекулы ДНК, то есть *амплифицировать ДНК*, был предложен[8] только в 1983 году Кэ́ри

[1] Watson J. D., Crick F. H. C. *Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid*. Nature. 1953; 171:737–738; DOI: 10.1038/171737a0; Wilkins M. H. F., Stokes A. R, et al. *Molecular Structure of Deoxypentose Nucleic Acids*. Nature. 1953; 171:738–740; DOI: 10.1038/171738a0; Franklin R. E., Gosling R. G. Molecular configuration in sodium thymonucleate. Nature. 1953; 171(4356):740–741; DOI: 10.1038/171740a0.

[2] James Dewey Watson, p. 1928; американский биолог. Лауреат Нобелевской премии по физиологии или медицине (1962). Глава проекта «Геном человека» (The Human Genome Project).

[3] Francis Harry Compton Crick, 1916–2004; британский и американский физик. Во время Второй мировой войны занимался разработкой магнитных и акустических мин. В 1947 году перешёл, как сам позже писал, от элегантности и глубокого понимания физики в сложные химические механизмы, естественный отбор которых развивался в течение миллиардов лет, ввиду чего ему пришлось почти заново родиться.

[4] Maurice Hugh Frederick Willkins, 1916–2004; новозеландский и британский физик ирландского происхождения. Лауреат Нобелевской премии по физиологии или медицине (1962).

[5] Rosalind Elsie Franklin, 1920–1958; британский биофизик еврейского происхождения, рентгенограф.

[6] Kjell Kleppe, 1934–1988; норвежский химик и молекулярный биолог.

[7] Kleppe K., Ohtsuka E. Studies on polynucleotides. XCVI. Repair replications of short synthetic DNA's as catalyzed by DNA polymerases. J Mol Biol. 1971; 56(2):341–361; DOI: 10.1016/0022-2836(71)90469-4.

[8] US 4683195 A, 28.07.1987; сведения о годе разработки метода указаны согласно персональному сайту (https://www.karymullis.com/pcr.shtml).

Му́ллисом[1], получив название *полимеразная цепная реакция* (ПЦР, PCR, от англ. **p**olymerase **c**hain **r**eaction). Суть ПЦР сводится к трём этапам:

1. *Денатурация (плавление).* Фрагмент ДНК (ДНК-матрицу)[2] нагревают до температуры 95°С (полминуты), чтобы в результате разрушения водородных связей разошлись две комплементарные цепи ДНК.
2. *Отжиг праймеров*. В результате снижения температуры примерно до 60°С (20–30 секунд), что зависит от праймеров (коротких синтетических олигонуклеотидов длиной 18–30 оснований), последние связываются с комплементарными фрагментами на цепочках ДНК. Именно от праймеров зависит специфичность ПЦР, поэтому их подбирают к наиболее уникальному и в то же время консервативному участку ДНК, чтобы при возникновении мутаций не пришлось создавать новые праймеры и не получить ложноотрицательный результат.
3. *Элонгация*. Температуру повышают до 70°С, чтобы фермент ДНК-зависимая ДНК-полимераза достроила из дезоксинуклеозидтрифосфатов («строительных блоков») вторую цепь, начиная от 3'-конца праймера, используемого в качестве затравки.

Режим температуры обеспечивается специальным прибором – *термоциклером* (thermocycler) или *амплификатором* (DNA amplifier). Таким образом, в теории в результате одного цикла из одного исходного фрагмента ДНК образуется два фрагмента, содержащих целевую область (т. к. достройка идёт от праймеров), следовательно, при многократном повторении количество продукта реакции (т. е. новых фрагментов ДНК, содержащих целевую область, или *аплико́нов*) увеличивается в геометрической прогрессии. На практи-

[1] Kary Banks Mullis; 1944–2019; американский биохимик. Лауреат Нобелевской премии по химии (1993). Отличался противоречивыми научными взглядами, в частности, отрицал изменение климата, истощение озонового слоя и связь между ВИЧ и СПИДом, объясняя свою позицию заговором; верил в астрологию.

[2] Если целевым продуктом является РНК, то до стадии денатурации проводят *обратную транскрипцию*, то есть добавляют к РНК фермент РНК-зависимую ДНК-полимеразу (ревертазу) и нагревают при 50°С, что приводит к образованию кДНК, которая и участвует в ПЦР.

ке выход продукта обычно ниже 100%, поэтому математически процесс ПЦР выражается как $(1 + E)^n$, где E – средняя эффективность реакции, n – количество циклов.

Первое время на каждом цикле после первого этапа приходилось добавлять ДНК-полимеразу, поскольку она инактивировалась при высокой температуре. Это делало процесс сложным, долгим и недешёвым. Поэтому уже в 1988 году было предложено[1] вместо полимеразы из бактерий *Escherichia coli* использовать полимеразу из термофильных бактерий *Thermus aquatiqus*, именуемую Taq-полимеразой и охарактеризованную за 10 лет до этого[2]. Существенным недостатком Taq-полимеразы является достаточно высокая вероятность внесения ошибочного нуклеотида из-за отсутствия механизма исправления ошибок. Полимераза Pfu, выделенная[3] в 1991 году из гипертермофильного архея *Pyrococcus furiosus*, обладает таким механизмом, но имеет низкую скорость работы, поэтому в настоящее время применяют смесь из Taq-полимеразы (для быстрой работы) и Pfu-полимеразы (для исправления ошибок). Стоит отметить, что при более низких температурах, например, при комнатной температуре, возможно неспецифическое действие полимеразы, что приводит к слипанию праймеров и образованию димеров. Поэтому уже в 1994 году было предложено[4] использовать антитела для инактивации полимеразы. Данная модификация, названная ПЦР с горячим стартом (Hot start PCR), предполагает «освобождение» полимеразы от антител на дополнительном этапе инактивации, проводимом перед денатурацией и включающем нагрев до 96–98°C (от 5 до 15 минут).

---

[1] Saiki R. C., Gelfand D. H., et al. *Primer-Directed Enzymatic Amplification of DNA with a Thermostable DNA Polymerase*. Science. 1988; 239(4839):487–491; DOI: 10.1126/science.2448875.

[2] Chien A., Edgar D. B., et al. *Deoxyribonucleic acid polymerase from the extreme thermophile Thermus aquaticus*. J Bacteriol. 1976; 127(3):1550–1557; DOI: 10.1128/jb.127.3.1550-1557.1976.

[3] Lundberg K. S., Shoemaker D. D., et al. *High-fidelity amplification using a thermostable DNA polymerase isolated from Pyrococcus furiosus*. Gene. 1991; 108(1):1–6; DOI: 10.1016/0378-1119(91)90480-Y.

[4] Sharkey D. J., Scalice E. R., et al. *Antibodies as Thermolabile Switches: High Temperature Triggering for the Polymerase Chain Reaction*. Nature Biotechnology. 1994; 12(5):506–509; DOI: 10.1038/nbt0594-506.

Постановку ПЦР осуществляют в боксированном помещении ПЦР-лаборатории[1], разделённой на последовательно расположенные рабочие зоны: разбора и первичной обработки материала (рабочая зона 1), выделения нуклеиновых кислот (рабочая зона 2), проведения реакции амплификации (рабочая зона 3)[2]. Учёт результатов, в зависимости от метода, проводят в рабочих зонах 3 или 4. Рекомендуется разделять рабочую зону 3 на два помещения (подзоны 3а и 3б), размещая их в отдельных помещениях. В подзоне 3а осуществляют приготовление реакционных смесей и, при необходимости, проведение обратной транскрипции. В подзоне 3б проводят амплификацию нуклеиновых кислот.

Для детекции результатов амплификации проводят *электрофорез* (Gel electrophoresis of nucleic acids), рабочая зона 4–1, когда продукты амплификации[3] окрашивают специфичным красителем, чаще всего бромистым этидием (3,8-диамино-5-этил-6-фенилфенантридиум бромид), и помещают в агарозный гель (0,7–2%-ный раствор агарозы в буфере), где под действием внешнего электрического поля наработанные фрагменты ДНК мигрируют от отрицательно заряженного катода к положительно заряженному аноду. Поскольку молекулы разной массы будут мигрировать с различной скоростью, через некоторое время они окажутся в разных частях геля, что благодаря красителю, флуоресцирующему под действием ультрафиолета, можно будет увидеть в виде полос[4] (Рис. 36.1). Для

[1] После работы помещения, бокс и инструментарий обрабатываются раствором дезинфектанта, в качестве которого используют 3%-ный раствор пероксида водорода или хлорсодержащие вещества (например, 0,2%-ный раствор ДП-2Т). Использование для этих целей растворов этилового спирта не допускается!

[2] При необходимости возможно совмещение рабочих зон 2 и 3 в одном помещении при условии работы в БМБ не ниже II класса для каждого этапа.

[3] Работать с ними следует крайне аккуратно, чтобы не законтаминировать рабочее место!

[4] Похожим образом определяют наличие плазмид в исследуемой культуре. Для этого из выращенной на агаре в течение 1-2 суток культуры выделяют ДНК: культуру эмульгируют в 100 мкл литической смеси (50 mM Tris, 3% SDS; довести pH до 12,6 прибавлением 2 моль/л NaOH), добавляют 10 мкл лизоцима и прогревают 30 минут на водяной бане при температуре 60°C. Затем добавляют 100 мкл фенол-хлороформной смеси (концентрация 1:1), быстро (но бережно!) встряхивают и центрифугируют 15 минут при 6000 об/мин. Аккуратно отбирают верхнюю фазу, не задевая интерфазу и осадок. Можно использовать и коммерческие наборы. Далее окрашивают специфичным красителем (например, бромистым этидием) и наносят на 0,7-0,75% гель для электрофореза, который проводят на ТАЕ-буфере (pH 7,8-7,9).

того, чтобы понимать, какая длина фрагмента полученного продукта, в щель дополнительно вносят *маркеры размера молекулярной массы* (molecular-weight size marker), именуемые также *ДНК-лестницей* (DNA ladder)[1].

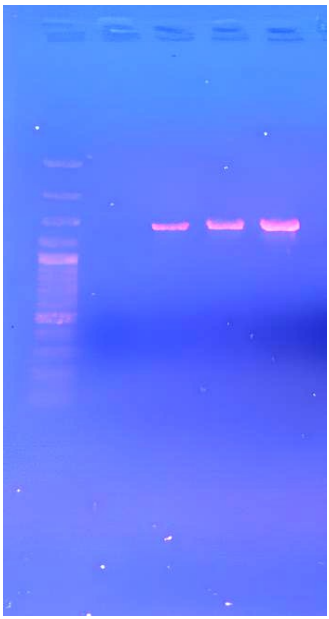


Рис. 36.1. *Свечение продуктов амплификации в геле (электрофореграмма) под действием ультрафиолета. Сверху видны лунки, в которые вносились образцы, а слева ДНК–лестница*

Для детекции в *режиме реального времени* (ПЦР-РВ, real time PCR), рабочая зона 3 (подзона 3б), чаще всего используют ДНК-зонды с флуоресцирующей меткой (флуорофором) и гасителем, комплементарные продукту амплификации (*гибридизационно-ферментный метод детекции*). Поскольку метка и гаситель пришиты к зонду, сигнал от метки поглощается гасителем, однако во время амплификации целостность зонда нарушается, и метка «выходит» в реакционную смесь, где её «встреча» с гасителем маловероятна. Чаще всего это происходит на этапе элонгации. Детекция осуществляется путём возбуждения флуорофора лазером и регистрацией испускаемой длины волны после каждого цикла, следовательно, интенсивность возбуждения с каждым циклом будет расти. И поскольку ПЦР по сути является реакцией полимеризации, где идентифицируемый фрагмент ДНК является своеобразным мономером реакции, то кинетика процесса (график амплификации) будет иметь характерную S-образную форму: базовую линию, экспоненциальный рост и плато (Рис. 36.3).

На электрофореграмме (Рис. 36.2) должны визуализироваться три полосы плазмидной ДНК, соответствующие pCad (47 МД), pFra (60-100 МД) и pPla (6-8 МД). Удобнее всего сравнивать с электрофореграммой ДНК, выделенной из контрольного штамма.

[1] Измеряют в Дальтонах (Да, D), чаще мегадальтонах (МД, МДа, Md), и парах нуклеотидов (базах).

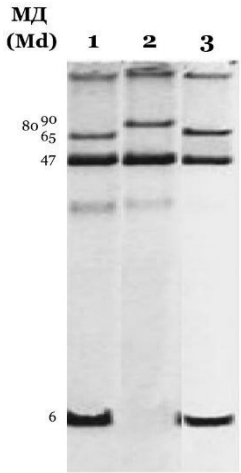


Рис. 36.2. *Плазмидный профиль типичных штаммов Y. pestis: 1 – основной подвид; 2 – кавказские штаммы; 3 – алтайские штаммы (любезно предоставлено Татьяной Евгеньевной Арсеньевой)*

Следует учесть, что к последним циклам зонды могут разваливаться самопроизвольно, а также, что интенсивные сигналы от одних образцов могут улавливаться датчиками других, что привело к необходимости введения *пороговой линии* (threshold), сигналы ниже которой не учитываются. Пороговая линия выставляется относительно результатов положительного контрольного образца (как правило, на уровне 10–20%). Тот цикл, при котором график пересекает пороговую линию, называют *пороговым числом циклов* (Ct). Это важная характеристика, позволяющая, хотя и примерно, судить о количестве ДНК в образце. Так, если Ct одного образца 6, а другого – 20, можно смело утверждать, что в первом образце ДНК-матрицы содержалось больше. Также значение Ct используется разработчиками тест-систем для указания в инструкции того, какой результат следует считать валидным, а какой нет.

Впервые чумной микроб был идентифицирован с помощью ПЦР в 1991 году[1]. С тех пор исследователями разрабатываются праймеры под различные мишени, и к настоящему времени в качестве основных выступают хромосомные участки *3a*[2], *hmsH* и *vlm12/IS216*, а также гены *caf1* (плазмида pFra; кодирует капсульный антиген) и *pla* (плазмида pPla; кодирует активатор плазминогена), что позволяет идентифицировать как полноценные штаммы чумного микроба, так и штаммы, лишённые одной из видоспецифич-

[1] Булат С. А., Михайлов Н. В., и др. *Геноидентификация видов и сероваров бактерий методом полимеразной цепной реакции с универсальными олигонуклеотидами: реидентификация ранее выделенных сероваров Yersinia pseudotuberculosis.* Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1991; 12:2–7.

[2] Данный участок является геномом профага и используется в качестве мишени во многих ПЦР тест-системах, однако справедливости ради нужно заметить, эта область отсутствует у некоторых штаммов.

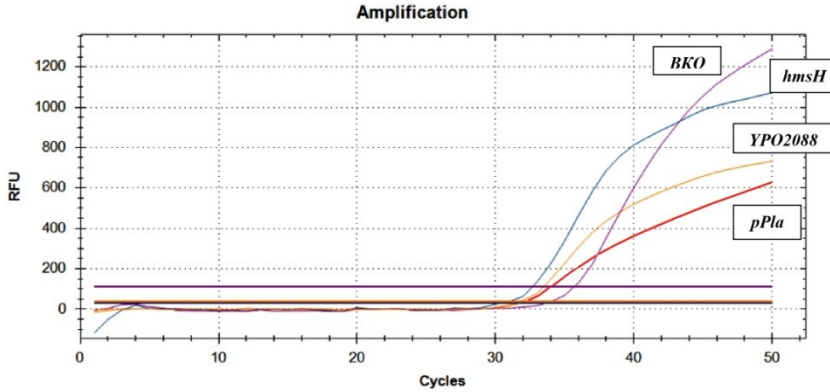


Рис. 36.3. *График амплификации с зарегистрированными сигналами (кривыми по каналам детекции), соответствующими фрагменту хромосомной нуклеотидной последовательности hmsH, фрагменту хромосомного гена YPO2088 (кодирует метилтрансферазу) и специфическому фрагменту нуклеотидной последовательности YPPCP1.09c видоспецифичной плазмиды pPla, а также внутреннему контролю образца (ВКО). Положительные контроли для наглядности опущены, горизонтальные линии – пороговая линия. Наличие сигналов по трём каналам (hmsH, YPO2088, pPla) указывает на содержание в пробе ДНК высоковирулентного, эпидемически значимого штамма чумного микроба. Наличие только двух сигналов (hmsH и pPla) указывает на содержание в пробе ДНК чумного микроба со сниженной эпидемической значимостью, а наличие только сигнала YPO2088 – авирулентного штамма чумного микроба*

ных плазмид. Интересен в качестве мишени ген *YP_002346399.1*, кодирующий ftsK/SpoIIIE family protein[1], поскольку в позиции 3056 гена у штаммов основного подвида находится аденин, тогда как у штаммов неосновного подвида – гуанин, что позволяет[2] на отличии всего одного нуклеотида различать штаммы основного подвида от штаммов неосновных подвидов. Кроме того, для целей внутривидовой дифференцировки разрабатываются тест-системы, основан-

[1] Данный белок предположительно связан с сегрегацией ДНК (т. е. распределением элементов её генетического материала в дочерние клетки).

[2] Трухачёв А. Л., Коновалова Н. В., и др. *Выявление SNP-маркеров и конструирование набора реагентов для внутривидовой дифференциации штаммов Yersinia pestis в ПЦР с помощью аллель-специфических зондов*, в сборн. *Сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, под ред. В. П. Покровского*, *Т. 1.* Тамбов: ООО фирма «Юлис», 2017, 554 с.

ные на амплификации фрагментов видоспецифичных участков хромосомы. Так, например, для улегейских штаммов характерна делеция в гене AK38_1098 (в 88 п. н.), а для алтайских штаммов – в гене AK38_1327 (в 90 п. н.). Созданные[1] на эти делеции праймеры позволяют идентифицировать указанные штаммы методом ПЦР. Для дифференциации авирулентных штаммов основного подвида от вирулентных выявляют, как несложно догадаться, хромосомные гены *hmsH* (*hms*-локус области пигментации) и *irp2* (остров высокой патогенности области пигментации), а также ген *lcrV* плазмиды pCad (подробно об этих генах говорилось в Главе 6).

ПЦР является быстрым и высокочувствительным методом, позволяющим детектировать 10^2–10^3 копий/мл материала. Он особенно удобен в ситуации, когда бактериологическое исследование затруднено (выделение чистой культуры маловероятно или вообще невозможно), а также для экспресс-диагностики. Вместе с тем ПЦР, как и все молекулярно-генетические методы, позволяет ответить только на вопрос, есть или нет нуклеиновая кислота в образце, а не живой ли микроорганизм. И это очень важно понимать, поскольку в случае бактерий наличие положительного результата ПЦР ещё не является доказательством наличия возбудителя, однако с помощью ПЦР можно дать предварительный результат, а также обнаружить факторы вирулентности.

С другой стороны, с помощью ПЦР можно косвенно подтвердить наличие живых клеток возбудителя в образце, используя литические бактериофаги. Зная начальную концентрацию бактериофагов, по увеличению их титра на ПЦР с течением времени (например, через 30, 60 и 90 минут) можно судить о наличии живых клеток возбудителя в материале. В случае чумного микроба было предложено[2] использовать бактериофаги *Л*-413С и φ1122, однако следует помнить, что при более высокой специфичности первого его литический цикл (т. е. время от заражения бактериальной клет-

[1] Никифоров К. А., Оглодин Е. Г., и др. *Подвидовая дифференциация штаммов Yersinia pestis методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентным учётом результатов*. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2017; 2:22–27; DOI: 10.36233/0372-9311-2017-2-22-27.

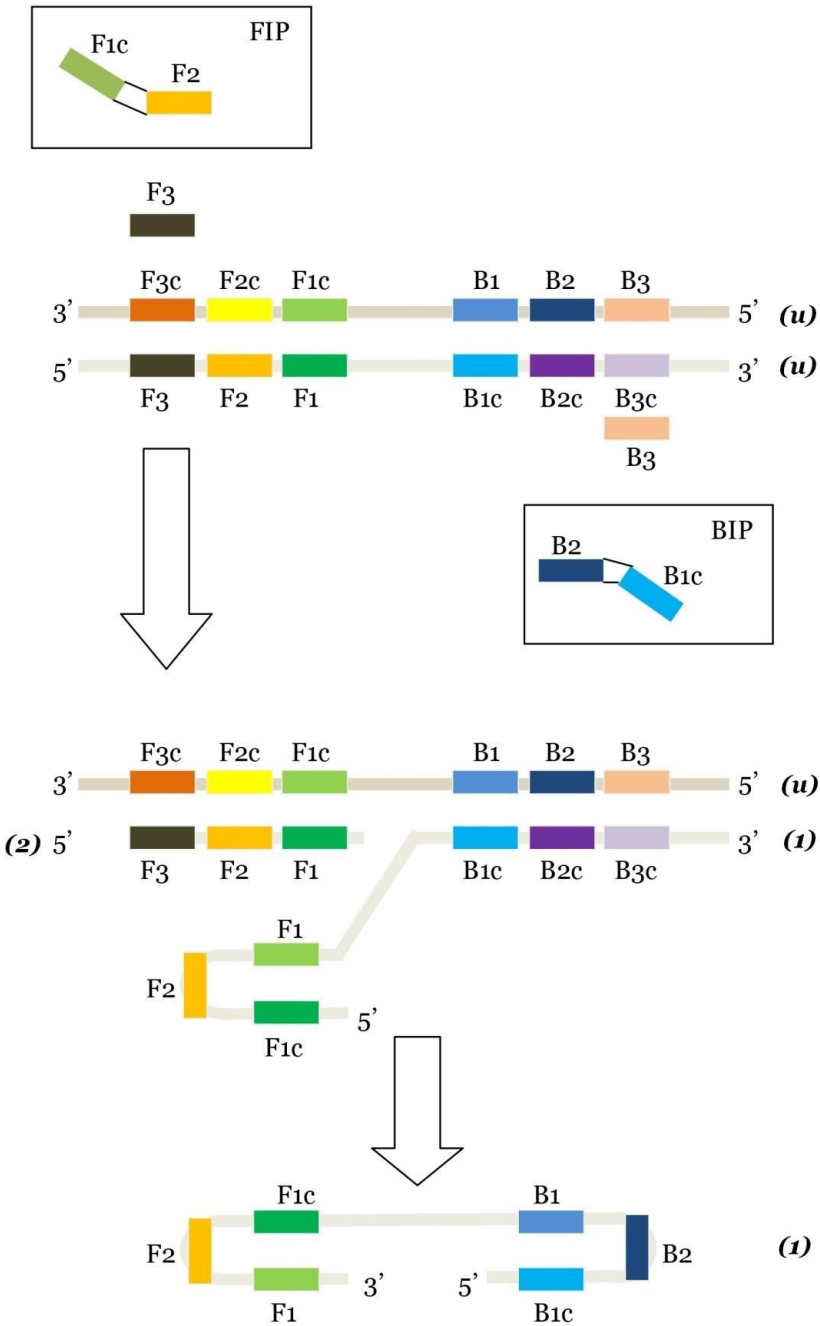
[2] Sergueev K. V., He Y., et al. *Rapid and sensitive detection of Yersinia pestis using amplification of plague diagnostic bacteriophages monitored by Real-Time PCR*, PLoS One. 2010; 5(6):e11337; DOI: 10.1371/journal.pone.0011337.

ки до выхода фаговых частиц) составляет 90 минут, тогда как у второго за это время проходит три литических цикла. Таким образом, в случае бактериофага *Л*-413С будет наработано 115 фаговых частиц, а в случае φ1122 – примерно 10^5. Данный способ достаточно простой и позволяет получить результат за 4 часа, однако, как уже не раз говорилось, необходимо помнить о фагоустойчивости и специфичности бактериофагов.

В качестве сравнительно быстрой (5–30 минут) альтернативы ПЦР применяют разработанную[1] в 2000 году *петлевую изотермическую амплификацию* (LAMP, **l**oop-mediated isothermal **amp**lification). Проводят LAMP при постоянной температуре (60–65°С), а результат амплификации детектируют либо визуально, по выпавшему в осадок пирофосфату магния (осадок), либо фотометрически (в режиме реального времени). Используют четыре праймера (FIP, F3, BIP и B3), распознающие в общей сложности шесть различных последовательностей целевой ДНК (Рис. 36.4), и ДНК-полимеразу из термофильной бактерии *Bacilus stearothermophilus* – Bst-полимеразу.

Участок F2 праймера FIP связывается с комплементарным участком F2c одной цепи ДНК, в результате чего ДНК-полимераза достраивает цепь (1), вытесняя вторую цепь исходной ДНК. Далее праймер F3 связывается с комплементарным участком F3c исходной цепи ДНК, в результате чего ДНК-полимераза снова достраивает цепь (2), а достроенная ранее цепь (1) вытесняется и 5'-концом «сворачивается» в петлю (F1 – F1c). К этой цепи (1) подходит праймер BIP и участком B2 связывается с комплементарным участком B2c. ДНК-полимераза достаивает цепь (3). Праймер B3 связывается с комплементарным участком B3c цепи (1), ДНК-полимераза достраивает цепь (4), которая вытесняет цепь (3), в результате чего последняя (3) «сворачивается» в две петли на концах, образуя конкатемер (целевой фрагмент). В результате построения множества инвертированных конкатемеров формируются в пространстве структуры, похожие на цветную капусту (cauliflower-like structures).

[1] Notomi T., Okayama H., et al. *Loop-mediated isothermal amplification of DNA*. Nucleic Acids Research. 2000; 28(15):e63; DOI: 10.1093/nar/28.12.e63.


FIP
F1c
F2
F3
F3c
F2c
F1c
B1
B2
B3
3'
5'
(u)
5'
3'
(u)
F3
F2
F1
B1c
B2c
B3c
B3
BIP
B2
B1c
F3c
F2c
F1c
B1
B2
B3
3'
5'
(u)
(2) 5'
3'
(1)
F3
F2
F1
B1c
B2c
B3c
F1
F2
5'
F1c
F1c
B1
F2
B2
(1)
3'
5'
F1
B1c

◄ ***Рис. 36.4.*** *Краткая схема LAMP и используемые в ней праймеры: FIP – прямой внутренний праймер, состоящий из частей F1c (5′) и F2 (3′), комплементарных участкам F1 и F2c; BIP – обратный внутренний праймер, состоящий из частей B1c (5′) и B2 (3′), комплементарных участкам B1 и B2c; F3 – прямой наружный праймер, комплементарный к участку F3c; B3 – обратный наружный праймер, комплементарный участку B3c*

Чуть позже было предложено[1] использовать шесть праймеров, распознающих восемь целевых участков, что, как несложно догадаться, повышает специфичность. Вместе с тем большое количество праймеров определяет главную сложность создания тест-систем[2]. Применительно к *Y. pestis* разработаны[3] тест-системы LAMP чувствительностью 10^4 копий/мл, с праймерами на хромосомный участок *3a* и ген *caf1A*, плазмиды pFra. Способа определения возбудителя по титру бактериофага для LAMP не предложено, но теоретически это также возможно.

Быстрое обнаружение ДНК чумного микроба не единственная задача, которую можно решать с помощью молекулярно-генетических методов. Проникнуть в строение ДНК, чтобы проследить микроэволюцию, – вот где высший пилотаж!

В 1977 году Фредери́ком Се́нгером[4] (с колл.) был предложен[5] метод определения последовательности нуклеотидов ДНК путём обрыва цепи, названный *секвенирование по Сенгеру*. Суть метода заключается в том, что к четырём образцам, содержащим фрагменты одной цепочки ДНК[6], помеченные с одного конца радиоактивным изотопом, добавляют ДНК-полимеразу, дезоксинуклеозидтрифос-

[1] Nagamine K., Hase T., et al. *Accelerated reaction by loop-mediated isothermal amplification using loop primers*. Mol Cell Probes. 2002; 16(3):223–229; DOI: 10.1006/mcpr.2002.0415.

[2] Чаще всего для подбора праймеров используют компьютерные программы, например, PrimerExplorer (www.primerexplorer.jp).

[3] Singh R., Pal V., et al. *Development of a pair of real-time loop mediated isothermal amplification assays for detection of Yersinia pestis, the causative agent of plague*. Mol Cell Probes. 2020; 54:101670; DOI: 10.1016/j.mcp.2020.101670.

[4] Frederick Sanger, 1918–2013; британский биохимик. Дважды Лауреат Нобелевской премии по химии (1958, 1980). Определил аминокислотный состав инсулина и других белков.

[5] Sanger F., Nicklen S., et al. *DNA sequencing with chain-terminating inhibitors*. PNAS. 1977; 74(12):5463–5467; DOI: 10.1073/pnas.74.12.5463.

[6] Со времени создания ПЦР, фрагменты нарабатывают амплификацией.

фаты (dNTR, «строительные блоки») и по одному из дидезоксинуклеозидтрифосфаты (ddNTR, грубо говоря, по одной «букве»), у которых отсутствует 3′-гидроксильная группа, ввиду чего ДНК-полимераза, дойдя до них, обрывает цепь («стоп-блок»). Таким образом, поскольку дезоксирибонуклеотиды встраиваются хаотично, на выходе в каждой из четырёх пробирок, соответствующих определённой «букве» ДНК, будет наработано множество фрагментов ДНК различной длины, с одного конца меченных радиоактивным изотопом, а с другой – «стоп-блоком». Далее проводят электрофорез (на каждом ряду своя «буква»), рабочая зона 4–1 на котором с помощью радиоактивной метки можно увидеть лестницу, по которой «буква за буквой» считывают последовательность нуклеотидов в исследуемом фрагменте.

Метод прост и элегантен, поэтому применяется до настоящего дня, за тем исключением, что он полностью автоматизирован и проводится на специальных приборах – *секвенаторах*. Кроме того, используют дезоксирибонуклеотиды, меченные флуоресцентными метками с разными длинами волн, что позволяет проводить реакцию в одной пробирке.

Со временем были предложены новые методы секвенирования[1], позволившие к 2001 и 2002 году расшифровать полные последовательности геномов штаммов *Y. pestis* CO92[2] и *Y. pestis* KIM[3] соответственно, что привело к множеству открытий, среди которых обнаружение огромного количества псевдогенов, независимых кластеров генов, кодирующих различные фимбрии и адгезины, а также генов, кодирующих ранее неизвестные поверхностные адгезины, но что самое интересное – способность генома *Y. pestis* к частой внутригеномной рекомбинации! О важности этих работ наглядно говорит их громадная цитируемость в научной литературе.

---

[1] Разработанный Фредериком Сенгером принцип лёг в основу технологий, значительно упростивших процесс секвенирования, среди которых в настоящее время лидирующие позиции занимают Oxford Nanopore, Illumina, IonTorrent, DNBSEQ-G50, MGI и PacBio. Однако всё ещё достаточно остро стоит вопрос ошибок (особенно при «прочитывании» больших фрагментов) и интерпретации полученных данных («сборки» геномных последовательностей).

[2] Parkhill J., Wren B. W., et al. *Genome sequence of Yersinia pestis, the causative agent of plague*. Nature. 2001; 413(6855):523–527; DOI: 10.1038/35097083.

[3] Deng W., Burland V., et al. *Genome Sequence of Yersinia pestis KIM*. J Bacteriol. 2002; 184(16):4601–4611; DOI: 10.1128/JB.184.16.4601-4611.2002.



Андрей Владимирович Ка́рлышев[1],
один из участников программы по секвенированию генома чумного микроба (Yersinia pestis Genome Sequencing Project), во время доклада о результатах полногеномного секвенирования штамма Y. pestis CO92, 8th International Symposium of Yersinia, 4–8 сентября 2002 года, Финляндия (любезно предоставлено Андреем Павловичем Анисимовым)

[1] Р. 1953; советский (российский) и британский химик, молекулярный биолог, бактериолог. Сконструированный им (с колл.) банк генов в *E. coli* из расфракционированной на хромосомную и плазмидную составляющие ДНК штамма *Y. pestis* EV позволил получить клон *E. coli*, синтезирующий капсульный антиген. Дальнейшие исследования показали, что образование капсулы контролируется генами *caf*-оперона (от англ. **c**apsular **a**ntigen **f**raction). Примечательно, что результаты этих исследований, опубликованные в 1990–1992 годах, опровергли существовавшее в то время предположение, будто бы гены, ответственные за синтез капсульного антигена, располагаются на хромосоме (напомним: они «обитают» на плазмиде pFra). Всё это стало возможно благодаря созданному космидному вектору pHC79, который позволил клонировать (внести в *E. coli*) большие фрагменты генома, что весьма критично, поскольку для синтеза капсульного антигена необходимо наличие и экспрессия целого кластера генов.

Секвенирование штаммов позволяет изучать эволюцию чумного микроба, строить филогенетические деревья, о которых говорили в самом начале (Глава 3), а также объяснять ферментативные особенности некоторых штаммов и развивать подходы к внутривидовой дифференциации.

В 1998 году для типирования микроорганизмов было предложено [1] *мультилокусное секвенирование* (MLST, **m**ulti**l**ocus **s**equence **t**yping), в основе которого лежит анализ вариабельности (т. е. изменчивости) консервативных генов, то есть тех генов, которые медленнее других накапливают мутации (их ещё называют генами «домашнего хозяйства»). В качестве мишеней чаще всего выбирают гены, по которым определяют филогенетическое родство, но которые не кодируют факторы вирулентности и патогенности. Чаще всего в качестве таких генов используют *rha*-локус, *aspA* и *nap*.

В отличие от MLST, требующего обязательного секвенирования генов-мишеней, анализ полиморфизма единичных нуклеотидов (SNP, **s**ingle **n**ucleotide **p**olymorphism), при котором оценивают вариабельность единичных нуклеотидов определённого локуса генома (так называемый *однонуклеотидный полиморфизм*), позволяет проводить дифференциацию микроорганизма с помощью более простых методов, таких как, например, ПЦР в реальном времени. Так, например, для штаммов чумного микроба основных и неосновных подвидов были обнаруженны специфические SNP, к которым подобраны соответствующие праймеры[2]. С другой стороны, многими исследователями SNP-типы используются для внутривидовой дифференцировки и уточнения филогении[3], о чём упомина-

---

[1] Maiden M. C., Bygraves J. A., et al. *Multilocus sequence typing: A portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms*. PNAS. 1998; 95(6):3140–3145; DOI: 10.1073/pnas.95.6.3140.

[2] Kislichkina A. A., Kadnikova L. A., et al. *Differentiation of Yersinia pseudotuberculosis, Yersinia pestis subsp. pestis and subsp. microti strains and other representatives of Yersinia pseudotuberculosis complex*. Molecular Genetics, Microbiology and Virology. 2017; 32(2):67–74; DOI: 10.3103/S0891416817020070.

[3] Например, у штаммов подветви 0.PE5/1 обнаружены замена T → A в позиции 54674 гена *ligB*, замена T → G в позиции 172494 гена *cysG* и замена A → C в позиции 4425839 гена *glgA*. У штаммов подветви 0.PE5/2–1 обнаружены замена C → A в позиции 3081204 гена *sixA* и замена G → A в позиции 4413306 гена *argE*. У штаммов подветви 0.PE5/2–2 обнаружены замена T → G в позиции 353703 гена *YPO0344* и замена C → A в позиции 2580558 гена *YPO2295*.

лось в Главе 3 (возможно, при первом знакомстве эта глава показалась сложной и непонятной; прочтите же её снова с учётом уже имеющихся знаний!).

Помимо вариабельности генов, изучают вариабельность так называемых *тандемных повторов* (tandem repeat), то есть повторяющихся друг за другом участков ДНК. *Мультилокусное VNTR-типирование* (MLVA, **m**ultiple **l**ocus **V**NTR **a**nalysis) основано на изучении *тандемных повторов, отличающихся по числу повторов* (VNTR, **v**ariable **n**umber **t**andem **r**epeat), а именно на ошибках, возникающих в процессе репликации VNTR. Для этого амплифицируют известные локусы с помощью ПЦР и сравнивают вариабельность VNTR с эталоном. Таким образом, к настоящему моменту выявлено уже более 430 MLVA25 типов.

Существуют также иные методы типирования, но не все они применяются в случае чумного микроба. Так, достаточно популярное определение полиморфизма рибосомных РНК (рРНК), в частности 16S рРНК, не показательно для чумного микроба из-за совпадения с *Y. pseudotuberculosis*. Более того, из трёх основных типов рРНК (23S и 5S в большой субъединице, и 16S в малой субъединице) обнаружена разница только по одному нуклеотиду в последовательности генов 23S рРНК!

Все эти методы позволяют изучать микроэволюцию чумного микроба, чтобы строить филогенетические деревья, о которых мы говорили в самом начале этой книги (Глава 3) или проводить филогеографические исследования, а в практической эпидемиологии – строить маршруты распространения эпидемии (Рис. 36.5).

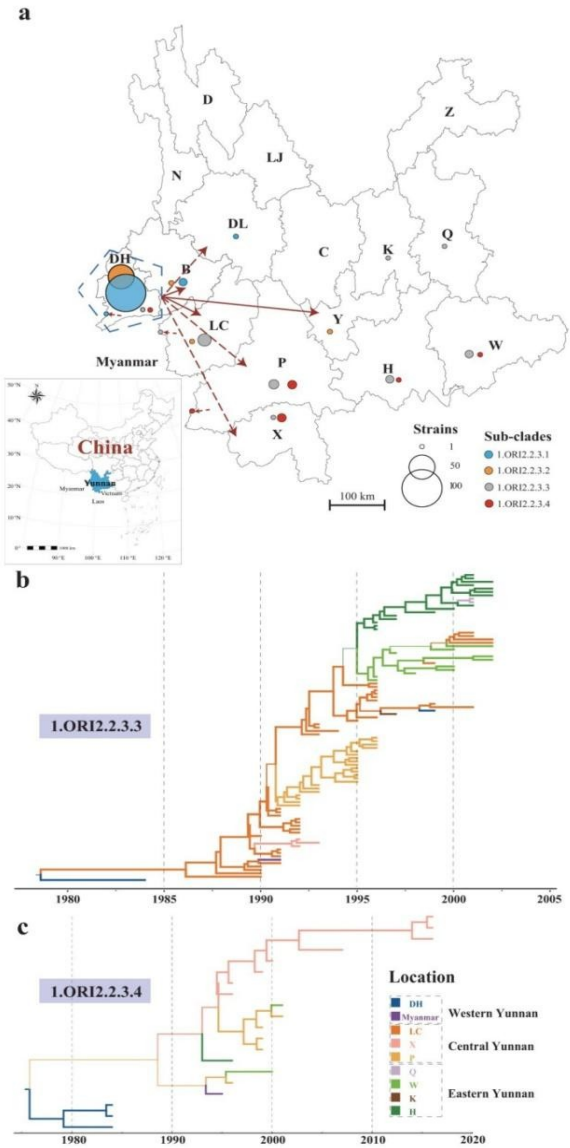


Рис. 36.5.
Карта распространения штаммов сублинии 2 во время эпизоотического процесса в Юньнаньском равнинном очаге в Китае (a) и филогенетические деревья (b, c) двух основных геновариантов (SNP типов). Синий пятиугольник обозначает вероятный регион «начала» эпизоотии, а красные стрелки указывают на прямые (сплошные стрелки) и косвенные (пунктирные стрелки) маршруты распространения. Кружи обозначают количество штаммов, группы которых обозначены цветом. Цвета линий филогенетических деревьев указывают на места отбора проб (по Qin J., 2023)

37 ПОДВЕДЕНИЕ ИТОГОВ

К настоящему моменту мы рассмотрели методы, которые чаще всего применяются на практике для лабораторной диагностики чумы. Окончательный положительный ответ всегда даётся на основании идентификации выделенной чистой культуры, однако по ходу исследования могут быть даны как предварительные положительные, так и отрицательные ответы. Порядок лабораторного исследования и его сроки[1] устанавливаются нормативными документами, но чаще всего они бывают следующими.

Материал от больных, свободный от посторонней микрофлоры (кровь, сыворотка крови, пунктаты бубона)

1–2 ч	Микроскопия образца. Посев: – на плотные питательные среды (Хоттингера, Мартена); – на плотные питательные среды с бактериофагом; – в пробирки; – во флакон (5 мл в 50 мл бульона). Биопроба (подкожно, внутрибрюшинно). ПЦР/LAMP (в том числе с бактериофагом).	Наличие в мазках Г-палочек типичных для чумного микроба → *подозрение на чуму (исследование продолжается).* Наличие специфического свечения на МФА → *предварительный положительный ответ.*

[1] Говоря о сроках, следует воспринимать их исключительно как минимальное время, за которое возможно провести данный этап исследования, но которое не включает в себя различных форс-мажорных обстоятельств и последовательного поступления проб. Сроки – это такое явление, которым крайне часто любят тыкать начальники в сотрудника, непосредственно выполняющего исследование. Если вы оказались в этой ситуации, следует спокойно объяснить, что любое исследование может закончиться невалидным результатом, требующим перестановки, а также, что для работы с пробой, помимо подготовки необходимых растворов и инструментария, её саму необходимо зарегистрировать, распаковать и подготовить, что порой требует очень много времени, не заложенного в расчётные сроки.

	МФА. РНГА с антительным и РНАт с антигенным диагностикумами / ИФА на обнаружение антигена (FI/FV)*. **Если больной поступил не в первые сутки, то целесообразно РНГА с антигеным и РНАг с антительным диагностикумами, ИХА на обнаружение антител.*	Положительный результат ИХА → *предварительный положительный ответ (подтверждение).*
2–6 ч	Учёт результатов ПЦР, РНГА, РНАт, РНАг, ИФА.	Положительный результат → *предварительный положительный ответ (подтверждение)*
18–36 ч	Просмотр посевов, микроскопия подозрительных колоний и их пересев для выделения чистой культуры, постановка ИХА, пробы с бактериофагом и определение чувствительности к антибиотикам*. **Если культуры мало, то ограничиваются только её накоплением.* Учёт результатов посевов с бактериофагом. Определение антигенурии у биопробных животных. Просмотр посевов во флаконах, их микроскопия*. **Если культуры на чашках мало, то осуществляют высев культуры из флакона на чашки.*	Наличие типичных для чумного микроба колоний, характерного роста на бульоне, положительного результата ИХА → *сообщение о росте культуры чумного микроба (исследование продолжается).* Положительная проба с бактериофагом и подтверждение антигенурии → *предварительный положительный ответ (подтверждение).*
36–48 ч	После накопления чистой культуры: – морфология роста колоний и в бульоне;	Положительный результат → *предварительный положительный ответ*

	– микроскопия + МФА; – ИХА; – тест на подвижность; – проба с бактериофагом; – реакция агглютинации; – тест на ферментативную активность; – тест на синтез FI (при 37°С); – ПЦР/LAMP (в том числе с бактериофагом); – определение чувствительности к антибиотикам (дискодиффузионный метод).	*(подтверждение).*
72 ч	Патологоанатомическое исследование павших биопробных животных*, приготовление и просмотр мазков-отпечатков. Посев из органов и крови на чашки (и в бульон). ПЦР/LAMP с суспензиями органов и его учёт. **Если животное пало раньше, то его вскрывают немедленно.*	Наличие характерных для чумы изменений у животных, характерные Г- бактерии в мазках-отпечатках → *предварительный положительный ответ (подтверждение).*
3 сутки	Просмотр посевов из органов. Учёт результатов идентификации культур (ферментативная активность и т. д.).	
до 8 суток	Эвтаназия и патологоанатомическое исследование не павших биопробных животных, приготовление и просмотр мазков-отпечатков. Посев из органов и крови на чашки (и в бульон). ПЦР/LAMP с суспензиями органов и его учёт.	*Положительный ответ.*

Критерии отрицательного ответа:

1. *отсутствие специфического роста культуры на питательных средах при посеве нативного материала и органов от биопробных животных;*
2. *отрицательные тесты;*
3. *отсутствие сероконверсии в парных сыворотках больного.*

Материал от больных, возможно, контаминированный посторонней микрофлоры (мокрота, слизь из зева, вскрывшийся бубон, содержимое язвы, органы трупов без признаков разложения)

1–2 ч	Микроскопия образца. Посев на плотные питательные среды с сульфитом натрия и генцианвиолетом* или селективные среды. **Кровь из сердца во флакон (5 мл в 50 мл бульона).*	Наличие в мазках Г-палочек типичных для чумного микроба → *подозрение на чуму (исследование продолжается).*
	Биопроба (подкожно, накожно). ПЦР/LAMP (в том числе с бактериофагом). МФА. РНГА с антительным и РНАт с антигенным диагностикумами / ИФА на обнаружение антигена (FI/FV).	Наличие специфического свечения на МФА → *предварительный положительный ответ.* Положительный результат ИХА → *предварительный положительный ответ (подтверждение).*
2–6 ч	Учёт результатов ПЦР, РНГА, РНАт, РНАг, ИФА.	Положительный результат → *предварительный положительный ответ (подтверждение).*
18–48 ч	Просмотр посевов, микроскопия подозрительных колоний и их пересев обязательно на	Наличие типичных для чумного микроба колоний, ха-

	плотные питательные среды с сульфитом натрия и генцианвиолетом, а также без них для выделения чистой культуры, постановка ИХА, пробы с бактериофагом и определение чувствительности к антибиотикам*. **Если культуры мало, то ограничиваются только её накоплением.* Постановка пробы с бактериофагом, а также определение чувствительности к антибиотикам. Определение антигенурии у биопробных животных. Просмотр посевов во флаконы, их микроскопия*. **Если культуры на чашках мало, то осуществляют высев культуры из флакона на чашки.*	рактерного роста на бульоне, положительного результата ИХА → *сообщение о росте культуры чумного микроба (исследование продолжается).* Подтверждение антигенурии → *предварительный положительный ответ (подтверждение).*
48–72 ч	Учёт пробы с бактериофагом, а также чувствительности к антибиотикам (последнее к 72 часу). После накопления чистой культуры: – морфология роста колоний и в бульоне; – микроскопия + МФА; – ИХА; – тест на подвижность; – проба с бактериофагом; – реакция агглютинации; – тест на ферментативную активность; – тест на синтез FI (при 37°C); – ПЦР/LAMP (в том числе с бактериофагом);	Положительный результат → *предварительный положительный ответ (подтверждение).*

	– определение чувствительности к антибиотикам (дискодиффузионный метод).	
72–96 ч	Патологоанатомическое исследование павших биопробных животных (подкожное заражение)*, приготовление и просмотр мазков-отпечатков. Посев из органов и крови на чашки с сульфитом натрия и генцианвиолетом (и в бульон). ПЦР/LAMP с суспензиями органов и его учёт. **Если животное пало раньше, то его вскрывают немедленно.*	Наличие характерных для чумы изменений у животных, характерные Г- бактерии в мазках-отпечатках → *предварительный положительный ответ (подтверждение).*
5 сутки	Просмотр посевов из органов. Учёт результатов идентификации культур (ферментативная активность и т. д.).	Наличие типичных признаков чумного микроба. Если таковых нет, то заключение не дают (дожидаются результатов следующего этапа).
5–8 сутки	Патологоанатомическое исследование павших биопробных животных (накожное заражение)*, приготовление и просмотр мазков-отпечатков. Посев из органов и крови на чашки с сульфитом натрия и генцианвиолетом (и в бульон). ПЦР/LAMP с суспензиями органов и его учёт. **Если животное пало раньше, то его вскрывают немедленно.*	Наличие характерных для чумы изменений у животных, характерные Г- бактерии в мазках-отпечатках → *предварительный положительный ответ (подтверждение).*
8 сутки или позднее	Эвтаназия и патологоанатомическое исследование не павших биопробных животных, приготовление и просмотр мазков-	*Положительный ответ.*

	отпечатков. Посев из органов и крови на чашки (и в бульон). ПЦР/LAMP с суспензиями органов и его учёт.	

Суммарные критерии отрицательного ответа:

1. *отсутствие специфического роста культуры на питательных средах при посеве нативного материала и органов от биопробных животных;*
2. *отрицательные тесты;*
3. *отсутствие сероконверсии в парных сыворотках больного (в случае живого человека)*

Материал от трупов с признаками разложения (в том числе трупы грызунов, обнаруженные в очаге)

1–2 ч	Микроскопия образца. Посев на плотные питательные среды с сульфитом натрия и генцианвиолетом* или селективные среды; **Костный мозг сеют отдельно; целесообразно дублировать пробы (использовать среды с различным содержанием генцианвиолета).* Биопроба (подкожно, накожно). ПЦР/LAMP (в том числе с бактериофагом). МФА. РНГА с антительным и РНАт с антигенным диагностикумами / ИФА на обнаружение антигена (FI/FV).	Наличие в мазках Г-палочек типичных для чумного микроба* → *подозрение на чуму (исследование продолжается).* **Следует учитывать склонность кишечных микроорганизмов к биполярному окрашиванию!* Наличие специфического свечения на МФА → *предварительный положительный ответ.* Положительный результат ИХА → *предварительный положительный*

		ответ (подтверждение).
3–6 ч	Учёт результатов ПЦР, РНГА, РНАт, РНАг, ИФА.	Положительный результат → *предварительный положительный ответ (подтверждение).*
18–48 ч	Просмотр посевов, микроскопия подозрительных колоний и их пересев обязательно на плотные питательные среды с сульфитом натрия и генцианвиолетом, а также без них для выделения чистой культуры, постановка ИХА, пробы с бактериофагом и определение чувствительности к антибиотикам*. **Если культуры мало, то ограничиваются только её накоплением.* Постановка пробы с бактериофагом, а также определение чувствительности к антибиотикам. Определение антигенурии у биопробных животных. Просмотр посевов во флаконы, их микроскопия*. **Если культуры на чашках мало, то осуществляют высев культуры из флакона на чашки.*	Наличие типичных для чумного микроба колоний, характерного роста на бульоне, положительного результата ИХА → *сообщение о росте культуры чумного микроба (исследование продолжается).* Подтверждение антигенурии → *предварительный положительный ответ (подтверждение).*
48-72 ч	Учёт пробы с бактериофагом, а также чувствительности к антибиотикам (последнее к 72 часу). После накопления чистой культуры: – морфология роста колоний и в бульоне; – микроскопия + МФА;	Положительный результат → *предварительный положительный ответ (подтверждение).*

	– ИХА; – тест на подвижность; – проба с бактериофагом; – реакция агглютинации; – тест на ферментативную активность; – тест на синтез FI (при 37°С); – ПЦР/LAMP (в том числе с бактериофагом); – определение чувствительности к антибиотикам (дисково-диффузионный метод).	
72–96 ч	Патологоанатомическое исследование павших биопробных животных (подкожное заражение)*, приготовление и просмотр мазков-отпечатков. Посев из органов и крови на чашки с сульфитом натрия и генцианвиолетом (и в бульон). ПЦР/LAMP с суспензиями органов и его учёт. **Если животное пало раньше, то его вскрывают немедленно.*	Наличие характерных для чумы изменений у животных, характерные Г- бактерии в мазках-отпечатках → *предварительный положительный ответ (подтверждение).*
5 сутки	Просмотр посевов из органов. Учёт результатов идентификации культур (ферментативная активность и т. д.).	Наличие типичных признаков чумного микроба. Если таковых нет, то заключение не дают (дожидаются результатов следующего этапа).
5–8 сутки	Патологоанатомическое исследование павших биопробных животных (накожное заражение)*, приготовление и просмотр мазков-отпечатков. Посев из органов и крови на чашки с	Наличие характерных для чумы изменений у животных, характерные Г- бактерии в мазках-отпечатках → *пред-*

	сульфитом натрия и генцианвиолетом (и в бульон). ПЦР/LAMP с суспензиями органов и его учёт. **Если животное пало раньше, то его вскрывают немедленно.*	*варительный положительный ответ (подтверждение).*
8 сутки или позднее	Эвтаназия и патологоанатомическое исследование не павших биопробных животных, приготовление и просмотр мазков-отпечатков. Посев из органов и крови на чашки (и в бульон). ПЦР/LAMP с суспензиями органов и его учёт.	*Положительный ответ.*

Суммарные критерии отрицательного ответа:

1. *отсутствие специфического роста культуры на питательных средах при посеве нативного материала и органов от биопробных животных;*
2. *отрицательные тесты.*

Трупы грызунов (отловленные и умерщвлённые) с выраженным комплексом патологоанатомических изменений, характерных для чумы

1–2 ч	Микроскопия мазков-отпечатков. Посев паренхиматозных органов, лимфатических узлов и костного мозга на плотные питательные среды с сульфитом натрия и генцианвиолетом или селективные среды; **Кровь из сердца во флакон (5 мл в 50 мл бульона).* Биопроба (подкожное и накожное заражение мыши или дикого грызуна того же вида,	Наличие в мазках Г-палочек типичных для чумного микроба → *подозрение на чуму (исследование продолжается).* Наличие специфического свечения на МФА → *предварительный положительный ответ.*

	пойманных на данной территории и прошедших 30-дневный карантин). ПЦР/LAMP (в том числе с бактериофагом). МФА. РНГА с антительным и РНАт с антигенным диагностикумами / ИФА на обнаружение антигена (FI/FV).	Положительный результат ИХА → *предварительный положительный ответ (подтверждение).*
2–6 ч	Учёт результатов ПЦР, РНГА, РНАт, РНАг, ИФА.	Положительный результат → *предварительный положительный ответ (подтверждение).*
18–48 ч	Просмотр посевов, микроскопия подозрительных колоний и их пересев обязательно на плотные питательные среды с сульфитом натрия и генцианвиолетом, а также без них для выделения чистой культуры, постановка ИХА, пробы с бактериофагом и определение чувствительности к антибиотикам*. **Если культуры мало, то ограничиваются только её накоплением.* Постановка пробы с бактериофагом, а также определение чувствительности к антибиотикам. Определение антигенурии у биопробных животных. Просмотр посевов во флаконы, их микроскопия*. **Если культуры на чашках мало, то осуществляют высев культуры из*	Наличие типичных для чумного микроба колоний, характерного роста на бульоне, положительного результата ИХА → *сообщение о росте культуры чумного микроба (исследование продолжается).* Подтверждение антигенурии → *предварительный положительный ответ (подтверждение).*

	флакона на чашки.	
48–72 ч	Учёт пробы с бактериофагом, а также чувствительности к антибиотикам (последнее к 72 часу). После накопления чистой культуры: – морфология роста колоний и в бульоне; – микроскопия + МФА; – ИХА; – тест на подвижность; – проба с бактериофагом; – реакция агглютинации; – тест на ферментативную активность; – тест на синтез FI (при 37°С); – ПЦР/LAMP (в том числе с бактериофагом); – определение чувствительности к антибиотикам (дискодиффузионный метод).	Положительный результат → *предварительный положительный ответ (подтверждение).*
72–96 ч	Патологоанатомическое исследование павших животных (подкожное заражение)*, приготовление и просмотр мазков-отпечатков. Посев из органов и крови на чашки с сульфитом натрия и генцианвиолетом (и в бульон). ПЦР/LAMP с суспензиями органов и его учёт. **Если животное пало раньше, то его вскрывают немедленно.*	Наличие характерных для чумы изменений у животных, характерные Г-бактерии в мазках-отпечатках → *предварительный положительный ответ (подтверждение).*
5 сутки	Просмотр посевов из органов. Учёт результатов идентификации культур (ферментативная активность и т. д.).	Наличие типичных признаков чумного микроба. Если таковых нет, то заключение не дают (дожидаются результатов следую-

		щего этапа).
5–8 сутки	Патологоанатомическое исследование павших биопробных животных (накожное заражение)*, приготовление и просмотр мазков-отпечатков. Посев из органов и крови на чашки с сульфитом натрия и генцианвиолетом (и в бульон). ПЦР/LAMP с суспензиями органов и его учёт. **Если животное пало раньше, то его вскрывают немедленно.*	Наличие характерных для чумы изменений у животных, характерные Г- бактерии в мазках-отпечатках → *предварительный положительный ответ (подтверждение).*
8 сутки или позднее	Эвтаназия и патологоанатомическое исследование не павших биопробных животных, приготовление и просмотр мазков-отпечатков. Посев из органов и крови на чашки (и в бульон). ПЦР/LAMP с суспензиями органов и его учёт.	*Положительный ответ.*

Суммарные критерии отрицательного ответа:

1. *отсутствие специфического роста культуры на питательных средах при посеве нативного материала и органов от биопробных животных;*
2. *отрицательные тесты*

Трупы грызунов (отловленные и умерщвлённые) без патологоанатомических изменений, характерных для чумы, исследуют индивидуально, в соответствии с конкретной эпидемиологической обстановкой и поставленными задачами. Это могут быть как исследование селезёнки с микроскопией отпечатков органов, их посевом и ПЦР/LAMP (а также постановкой иных молекулярно-генетических методов), так и полномасштабное обследование по приведённой выше схеме, в том числе постановка групповой биопробы.

Эктопаразитов и *объекты окружающей среды*, как правило, исследуют по схеме материала, свободного от посторонней микрофлоры.

38 ПОСЛЕСЛОВИЕ

Продолжая разговор о дифференциации *Y. pestis* от *Y. pseudotuberculosis*, нельзя не упомянуть о таком методе, как *времяпролётная масс-спектрометрия с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией* (MALDI-TOF MS; **m**atrix-**a**ssisted **l**aser **d**esorption/**i**onization **t**ime-**o**f-**f**light **m**ass **s**pectrometry). Данный метод, предложенный[1] в 1987 году Тана́ка Ко́ити[2] (с колл.), заключается в воздействии импульсами лазерного излучения на смесь анализируемого вещества и матрицы – вещества, которое подбирается таким образом, чтобы понижать деструктивные свойства лазерного излучения на анализируемое вещество и способствовать его ионизации. После воздействия лазера матрица поглощает его энергию и передаёт веществу, в результате чего последнее десорбируется и ионизируется. Над поверхностью образуется так называемый факел (plume), состоящий из различных частиц (MALDI), из которых ионы далее, под действием электромагнитного тока, поднимаются к датчику по вакуумной трубке (TOF). Поскольку ионы имеют разное отношение массы к заряду (m/z), они регистрируются датчиком в разное время и с разной интенсивностью, что выражают графически. Обычно идентификацию бактерий проводят по белковым структурам путём исследования бактериальных колоний, однако в случае возбудителей особо опасных бактериальных инфекций используют инактивированные клетки или их белковые экстракты. Культуру чумного микроба культивируют на агаре Хоттингера в течение 24–48 часов при 28°С. Исследование проводят чаще всего на

[1] Tanaka K., Waki H., et al. *Protein and polymer analyses up to m/z 100 000 by laser ionization time-of-flight mass spectrometry*. Rapid Communications in Mass Spectrometry. 1988; 2(8):151–153; DOI: 10.1002/rcm.1290020802.

[2] 田中 耕一 (*Танака Коичи*), р. 1959; японский инженер, электрик. Лауреат Нобелевской премии по химии (2002).

матрице из насыщенного раствора α-циано-4-гидроксикоричной кислоты (α-HCCA) с 50%-ным содержанием ацетонитрила и 2,5%-ной трифторуксусной кислоты, применяя 40 импульсов лазера частотой 60 Гц (анализируемый диапазон m/z составляет 2000–20000 Да). Полученные масс-спектры (Рис. 38.1) сравнивают с существующими в базе данных.

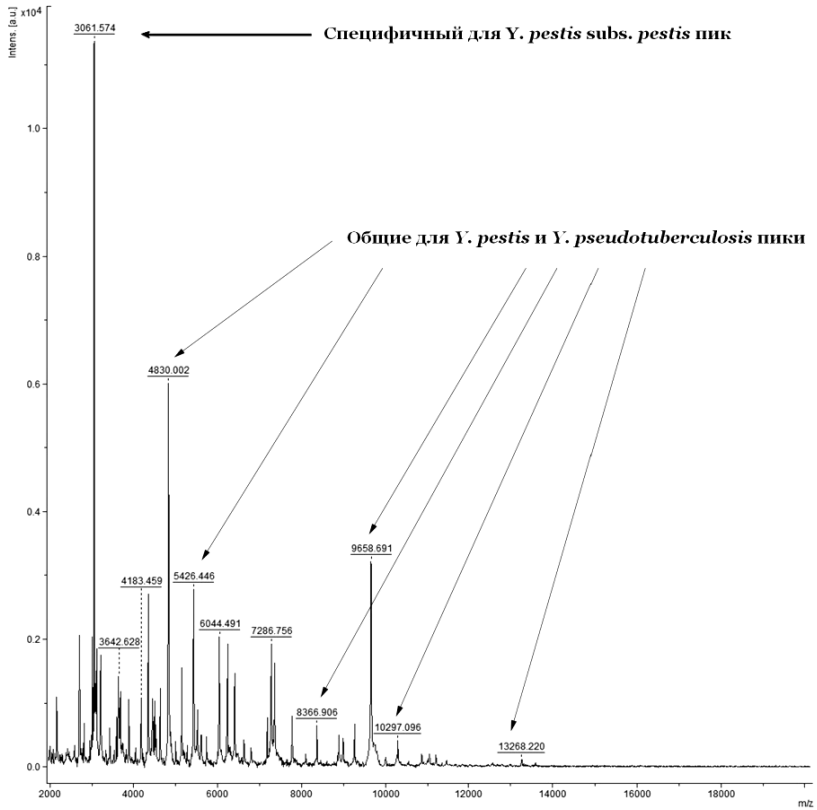


Рис. 38.1. *Масс-спектры белковых экстрактов штамма Y. pestis (по Спицын А. Н., 2016)*

Как можно видеть из Рис. 38.1, дифференцировка чумного и псевдотуберкулёзного микробов данным методом имеет определённые ограничения, поскольку большая часть пиков (m/z 4830, 5426, 8366, 9658, 10297 и 13268) являются общими, тогда как специфичным для *Y. pestis* является только пик m/z 3061 (по другим сведениям, 3063 или 3065).

Среди причин, которые могли привести к получению разных значений масс-спектров, стоит отметить естественную вариабельность чумного микроба[1], однако так или иначе этот пик соответствует фрагменту белка активатора плазминогена. С другой стороны, у кавказских штаммов наиболее интенсивным является пик m/z 6474, отсутствующий у чумного микроба других подвидов, но присутствующий у *Y. pseudotuberculosis*. Всё это прямо указывает на сложности лабораторной диагностики, в частности дифференцировки с псевдотуберкулёзным микробом, большую роль в которой играют так называемые *атипичные штаммы* чумного микроба[2].

В первую очередь это беспигментные (т. е. потерявшие *pgm*-область, авирулентные) и бесплазмидные штаммы, циркулирующие в природных очагах, но также редко выделяемые и в антропургических очагах, в частности от крысы в портовой зоне города Санкт-Петербург (Россия), где до этого чумной микроб вообще никогда не выделялся[3]. Бесплазмидные штаммы могут быть лишены одной, двух и даже трёх плазмид[4] (а могут и иметь дополнительные, криптические, о них говорили в Главе 6). Из всех бесплазмидных штаммов только потерявшие плазмиду кальцийзависимости (pCad$^-$-штаммы) являются авирулентными, тогда как остальные,

---

[1] Следует отметить, что данные значения нельзя считать близкими хотя бы в силу того, что для *Vibrio cholera* серогрупп O1 classical, O1 El-Tor и O139 специфичными считаются пики m/z 1755.1, 1755.4 и 1756.3 соответственно.

[2] Фенотипически они так сложно отличимы, что некоторое время даже считалось, что один вид способен «превращаться» в другой!

[3] Первоначально они были идентифицированы как *Y. pseudotuberculosis*, проявляли слабую вирулентность для лабораторных животных, диссоциировали по форме колоний (т. е. образовывали колонии S- и R-форм) и имели признаки поражения бактериофагом. По мере совершенствования диагностических методов была доказана их принадлежность к *Y. pestis*, но происхождение осталось неясным.

[4] Иванова В. С., Лебедева С. А., и др. *Скрининг плазмид у музейных штаммов чумного микроба, выделенных из разных природных очагов*. Молекулярная генетика, микробиология, вирусология. 1990; 3:16–18.

потерявшие pPla и (или) pFra, могут проявлять различную степень вирулентности. В качестве примера рассмотрим атипичные штаммы, выделенные в Южном Прибалхашье (Прибалхашский пустынный очаг, Казахстан). Так, Fra$^-$-мутанты (т. е. лишённые плазмиды pFra) высоковирулентны для белых мышей и больших песчанок, но авирулентны для морских свинок. Мутанты P$^-$ (т. е. лишённые области пигментации *pgm*) высоковирулентны только для малых тушканчиков. Мутанты Fra$^-$ P$^-$ (т. е. лишённые плазмид pFra и области пигментации *pgm*) высоковирулентны для белых мышей и тушканчиков, но авирулентны для морских свинок.

Существуют также штаммы со сниженной продукцией капсульного антигена (Fra$^\pm$), что может происходить как вследствие утраты автономности плазмиды pFra, в результате её интеграции с хромосомой, так и повреждения генов *caf*-оперона (регуляторного *cafR*, вспомогательных *caf1M* и *caf1A* или структурного *caf1*)[1] при сохранении плазмиды pFra. Обычно такие штаммы выделяются в начале или чаще на исходе эпизоотий[2]. Они в различной степени вирулентны для лабораторных животных и способны вызывать лёгкое или скрытое течение болезни у людей (часто атипичное) с затяжным инфекционным процессом и длительным инкубационным периодом[3]. В этой связи крайне важно вспомнить, что выявление капсульного антигена (или антител к нему) является важным критерием определения случая чумы, поэтому наличие штаммов, у которых его нет, грозит ложноотрицательными результатами для пациентов. Кроме того, существуют штаммы, у которых капсульный антиген обнаруживается только в препаратах разрушенных клеток, то есть он синтезируется, но не секретируется (Рис. 38.2). И такие штаммы уже выделялись от больных людей[4].

---

[1] Естественные механизмы повреждения у природных штаммов и условия реверсии к Fra$^+$ к настоящему моменту не изучены.

[2] Вероятно, это связано с тем, что у таких штаммов сниженная способность выживания в блохе.

[3] Также имеются единичные сведения о случаях заражения людей на Кавказе и в Китае рамнозопозитивными штаммами.

[4] Burrows T. W., Bacon G. A. *The effects of lost of different virulence determinants on the virulence and immunogenicity of strains of Pasteurella pestis*. Br J Exp Pathol. 1958; 39(3):278–291.

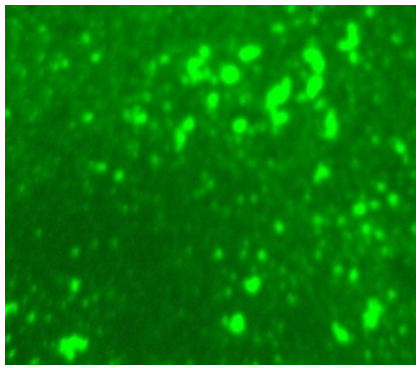


Рис. 38.2. *Люминесцентное свечение капсульного антигена Fra±-штаммов чумного микроба. Обратите внимание, что светится лишь незначительная часть клеток*

С другой стороны, такие мутанты часто выделяются в природных очагах в межэпизоотический период, поскольку имеют высокую жизнеспособность. Так, штамм *Y. pestis* 825, выделенный летом 1963 года в урочище Босуген (Южное Прибалхашье, Казахстан), легко передавался по цепи большая песчанка – блоха – песчанка, а по интенсивности блокообразования у блох превосходил типичные вирулентные штаммы: 61,6% блох в случае атипичного и только 29,6% блох в случае типичного! У других выделенных Fra±-мутантов это значение колеблется от 32 до 57%[1]. И хотя, как мы помним, блокообразование является не единственным механизмом передачи возбудителя, эти данные весьма показательны.

Поскольку обследование очагов в межэпизоотический период в первую очередь направлено на выделение чистой культуры, необходимо отметить, что Fra⁻- и Fra±-штаммы достаточно часто формируют гладкую S-форму колоний (Рис. 38.3), типичную для псевдотуберкулёзного микроба, хуже лизируются диагностическими бактериофагами, а «полёвочные» штаммы, отнесённые к кавказским, вообще не лизируются.

Ранее мы уже говорили, что некоторые штаммы чумного микроба способны ферментировать рамнозу и мелибиозу, продуцировать уреазу и не иметь потребностей в аминокислотах (прототрофность) – словом, быть как две капли воды *Y. pseudotuberculosis*. Указанная похожесть порой бывает настолько выраженной, что до внедрения молекулярно-генетических методов исследования (секвени-

[1] Ларионов Г. М. *К эпизоотологической роли атипичных штаммов возбудителя чумы, выделяемых в Южном Прибалхашье и некоторых других частях Среднеазиатского пустынного очага.* Автореферат дис. … кандидата медицинских наук, Саратов, 1972, 25 с.

рования) бывали случаи путаницы, когда псевдотуберкулёзный микроб регистрировали как чумной (и наоборот)[1].

С другой стороны, чумной и псевдотуберкулёзный микробы достаточно часто циркулируют вместе в природных очагах и выделяются в виде смеси. На чашках, помимо типичных R- и S-форм колоний, соответственно, они могут формировать также атипичные OR, OS, SR и S формы *Y. pestis* и OR- и R-формы *Y. pseudotuberculosis* (Рис. 38.3). Находясь в организмах носителей и переносчиков, эти два микроба нередко вызывают сочетанные эпизоотии. При этом псевдотуберкулёз, протекающий в хронической форме, может вызвать перекрёстный иммунитет за счёт некоторых общих антигенов, что будет способствовать возникновению иммунной прослойки носителей и, как следствие, снижению остроты эпизоотического процесса (его «размазыванию»). Именно такое тесное существование может приводить к обмену плазмидами и формированию клонов *Y. pseudotuberculosis* с плазмидами *Y. pestis*, проявляющих схожие с чумным микробом свойства. Например, помимо повышенной вирулентности, они могут проявлять ауксотрофность, быть неподвижными (Рис. 38.4), не синтезировать уреазу, не ферментировать рамнозу (и мелибиозу), лизироваться некоторыми чумными бактериофагами, но не лизироваться некоторыми псевдотуберкулёзными, а также агглютинироваться противочумными анти-FI сыворотками.

Клоны, содержащие плазмиду pPla, не имеют сравнительной с *Y. pestis* вирулентности, поскольку синтезируемый активатор плазминогена при взаимодействии с ЛПС не может перейти в активную

[1] В редких случаях это приводило даже к появлению новых «усреднённых» видов. Так, например, «иолотанские» штаммы, выделенные в Туркменистане, одно время относили к виду *Y. pseudopestis turkmenica*.Вместе с тем появление молекулярно-генетических методов нередко способствовало интересным открытиям. В частности, было показано, что в гене *aspA*, отвечающем за синтез белка AspA (аспартазы), у алтайских и гиссарских штаммов чумного микроба в позиции 1087–1089 находится тот же триплет GTG, что и у штаммов *Y. pseudotuberculosis*, который кодирует аминокислоту валин. В тоже время у кавказских и улегейских штаммов в этой позиции располагается триплет TCG, кодирующий аминокислоту серин. Справедливости ради стоит сказать, что замена одной аминокислоты на другую в составе белка не влияет на его активность, а именно катализирование дезаминирования (т. е. извлечения аминогрупп из состава молекулы) L-аспартата с образованием фумарата (компонента цикла трикарбоновых кислот).

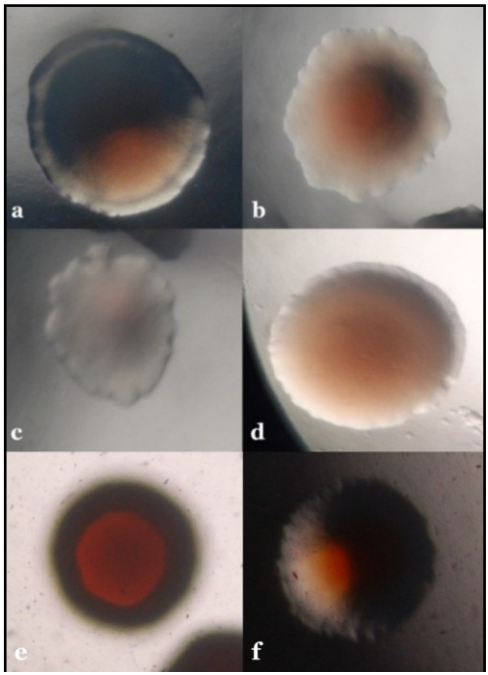


Рис. 38.3. *Колонии Y. pseudotuberculosis (a – типичная, c – атипичная) и Y. pestis (b – типичная, d, e и f – атипичные) в косопроходящем пучке света (любезно предоставлено Татьяной Евгеньевной Арсеньевой) Обратите внимание, как атипичные формы колоний одного микроба похожи на типичные формы колонии другого, а также сравните их с Рис. 30.6–30.8*

конформацию, будучи экранируемым О-антигеном. Вместе с тем даже в случае сероваров O:8, O:13 и O:14, у которых R-форма *Л*ПС (т. е. отсутствует О-антиген), активация слабая и проявляется только при 37°C.

В этой связи особого внимания тут, конечно же, заслуживают клоны с плазмидой pFra, поскольку, как уже не раз говорилось, выявление капсульного антигена (или антител к нему) является важным критерием определения случая чумы. Клонированные *caf*-гены в векторной плазмиде у рекомбинантных клонов псевдотуберкулёзного микроба обеспечивают продукцию полноценного капсульного антигена, способного вызвать иммунный ответ и, соответственно, формирование антител, что является дополнительным фактором, снижающим остроту эпизоотического процесса (за счёт образования иммунной прослойки носителей). Кроме того, вполне возможно, что именно существование pFra$^+$-штаммов *Y. pseudotuberculosis* способствовало формированию ложных представлений о «кишечной» форме чумы.

Таким образом, можно видеть большую схожесть между атипичными штаммами чумного и псевдотуберкулёзного микробов, которая в значительной степени ограничивает их дифференциа-

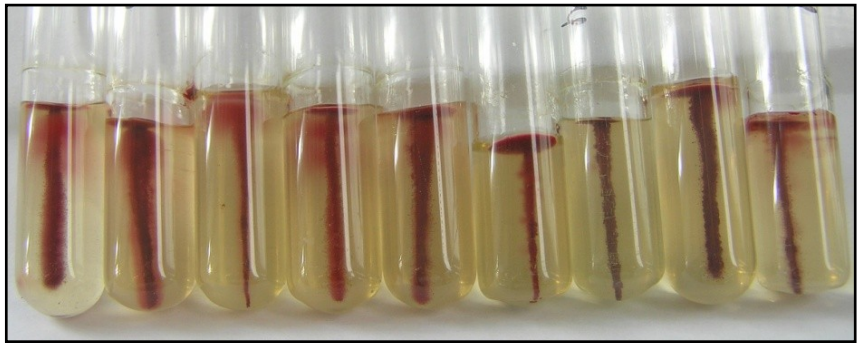


Рис. 38.4. *Тест на подвижность атипичных штаммов Y. pseudotuberculosis в 0,4%-ном агаре Хоттингера (в среду добавлен 1% ТТХ, окрашивающий культуру). Обратите внимание, что в случае некоторых штаммов подвижность полностью отсутствует (сравните её с результатом у чумного микроба на Рис. 30.14, а также в свете данной информации оцените специфичность методик, приведённых на страницах 393 и 394)*

цию, требуя повышения эффективности диагностики чумы. Конечно, всё большее внедрение молекулярно-генетических методов исследования позволяет однозначно решить вопрос принадлежности выделенного штамма, однако это не умаляет важности их изучения, уточнения механизмов взаимодействия и эволюции, что в настоящий момент ещё плохо изучено. И кто знает, может быть, именно вам предстоит проникнуть в самые удивительные тайны, которые до сих пор скрывает чумной микроб.

Что бы ни произошло – никогда не сдавайся!.. Развивай своё сердце... трудись ради мира в своём сердце и во всём мире. Неважно, что происходит вокруг тебя, неважно, что произошло с тобой, – никогда не сдавайся!

Далай-лама XIV

ФИНАЛ

Базилика Санта-Мария-делла-Салюте. Человек в чёрном пальто всё так же стоит, склонившись над медным диском. Откуда началось, оттуда и пришло спасение. Где начало, там и конец.

Капля слезы, медленно скатившись с его щеки, упала на диск.

Nessun dorma![1]

Nessun dorma!

Пусть никто не спит! Пусть устремит свой взор в бескрайние просторы Вселенной и среди миллиардов звёзд увидит тончайший узор прошлого и грядущего, переплетение человеческих судеб и память обо всех событиях! Пусть познавший надёжно хранит её в своём сердце, неся по жизни! Потому что однажды *e noi dovrem, ahimè, morir, morir*[2], стать песком времени под молчаливым взором звёзд…

* * *

Дорогой друг! Вот и закончилось наше путешествие, и я благодарю, что вы были рядом на каждой странице этой книги.

КОНЕЦ



[1] Ит. «Пусть никто не спит»; ария Калафа из последнего акта оперы Джакомо Пуччини «Турандот».

[2] Ит. «и нам придётся умереть, увы»; оттуда же.

Дополнительные материалы

Картографирование природных очагов

Во времена СССР на каждый природный очаг чумы, расположенный на территории страны, для целей эпидемиологического надзора были составлены паспорта, включающие сведения о названии очага, его географических границах, физико-географической и ландшафтной характеристиках, биоценотической и пространственной структурах, эпидемических осложнениях и эпизоотической активности. При этом важным документом паспорта является карта очага. Традиционно карты масштаба 1:1000000 («миллионку») делят меридианами и параллелями на 144 листа (трапеции), имеющих размеры 30′ вдоль параллели и 20′ вдоль меридиана, получая карты масштаба 1:100000, то есть так называемые «*километровки*». Каждую трапецию (лист) нумеруют арабскими цифрами слева направо и сверху вниз, начиная с северо-западного угла (от 000 до 144). Карты следующего, более крупного, масштаба 1:50000 образуются делением каждой из 144 трапеций на четыре равные части, обозначаемые заглавными буквами алфавита (А, Б, В и т. д.) по той же схеме, то есть слева направо и сверху вниз, начиная с северо-западного угла. Размеры одной трапеции карты масштаба 1:50000 составляет 15′ вдоль параллели и 10′ вдоль меридиана. Далее, делением трапеции также на четыре части получают карты масштабом 1:25000, у которых размер одной трапеции составляет уже 7′30′′ вдоль параллели и 5′ вдоль меридиана. Один лист в системе координат 1942 года составляет «*сектор первичного района*». Соответственно, как несложно догадаться, четыре листа, объединяемые в трапецию масштаба 1:50000, составляют «*первичный район*».

В практике противочумных учреждений за минимальную учётную единицу территории приняты карты масштаба 1:2500, составляющие «сектор». Всем секторам, полностью или частично расположенным на территории природного очага, присваивается уникальный цифровой код (шифр). Этот шифр состоит из 11 цифр, где первые девять образованы из номенклатуры соответствующего листа топографической карты (то, о чём говорилось выше), а оставшиеся две, заключённые в круглые скобки, – являются общепринятым шифром природного очага. Эта система в настоящее время сохраняется в странах СНГ (Табл. 1-П)[1,1], хотя нельзя не отметить имею-

[1] Шифры очагов приводятся по Методическим рекомендациям «Организация и проведение эпидемиологического надзора в природных очагах чумы на территории государств – участников Содружества Независимых Государств», утв. Решением Совета по сотрудничеству в области здравоохранения Содружества Независимых Государств от 8–9 ноября 2019 года (город Душанбе, Таджикистан).

щуюся тенденцию к ГИС-паспортизации с помощью спутниковых систем ГЛОНАСС/GPS[3], которая предусматривает обязательное указание географических координат для каждого места сбора материала. Вместе с тем переход на неё затруднён ввиду того, что, во-первых, необходима преемственность эпидемиологического надзора в исторической перспективе, а, во-вторых, формализованные учётные единицы (сектора) облегчают привязку данных (хотя возможно использование этих систем совместно с «секторами»).

В остальных странах картографирование очагов отсутствует. Надзор за природными очагами носит не систематический, а скорее научный характер.

Табл. 1-П. Шифры природных очагов чумы

Региональные группы очагов	**Очаг**	**Шифр очага**
Кавказ и Закавказье	Центрально-Кавказский высокогорный	01
	Закавказский высокогорный	04 – 06
	Приараксинский низкогорный	07
	Закавказский равнинно-предгорный	08 – 13
	Восточно-Кавказский высокогорный	39
Северо-Западный и Северный Прикаспий	Терско-Сунженский низкогорный	02
	Дагестанский равнинно-предгорный	03
	Прикаспийский Северо-Западный степной	14
	Волго-Уральский степной	15
	Волго-Уральский песчаный	16
	Урало-Уильский степной	17
	Прикаспийский песчаный	43
Средняя Азия	Урало-Эмбенский пустынный	18
	Предустюртский пустынный	19
	Устюртский пустынный	20
	Северо-Приаральский пустынный	21
	Арыскумско-Дарьялыктакырский пустынный	22
	Мангистаукский пустынный	23
	Приаральско-Каракумский пустынный	24
	Каракумский пустынный	25
	Копетдагский равнинно-предгорный	26
	Кызылкумский пустынный	27

[2] Двузначные шифры очагов также используются в Монголии и Китае, но больше в целях унификации научных данных.

[3] Кузнецов А. А., Поршаков А. М., и др. *Перспективы ГИС-паспортизации природных очагов чумы Российской Федерации*. Проблемы особо опасных инфекций. 2012; 1(111):48–53; DOI: 10.21055/0370-1069-2012-1(111)-48-53.

	Муюнкумский пустынный	28
	Таукумский пустынный	29
	Прибалхашский пустынный	30
	Сыръджазский высокогорный	31
	Верхненарынский высокогорный	32
	Аксайский высокогорный	33
	Гиссарский высокогорный	34
	Алайский высокогорный	35
	Таласский высокогорный	40
	Бетпакдалинский пустынный	42
	Джунгарский горный	44
	Приалакольский низкогорный	45
	Илийский межгорный	46
Сибирь и Дальний Восток	Горно-Алтайский высокогорный	36
	Тувинский горный	37
	Забайкальский степной	38
Монголия	Тавын-Бодо-Ульский	MN01
	Сайлюгемский	MN02
	Хархира-Тургенский	MN03
	Ценгел-Хайрханский	MN04
	Бухэн-Ульский	MN05
	Эзерлег-Буянт-Ульский	MN06
	Хуух-Сэрх-Мунх-Хайрханский	MN07
	Улан-Сундуйский	MN08
	Сутайский	MN09
	Хасагдский	MN10
	Тайширский	MN11
	Бурхан-Будайский	MN12
	Аж-Богдинский	MN13
	Гичгэнский	MN14
	Гурван-Сайханский	MN15
	Южно-Гобийский	MN16
	Хан-Хухэйский	MN17
	Сонгино-Тудэвский	MN18
	Яру-Богдынский	MN19
	Буянт-Гольский	MN20
	Тэсийн-Шарагольский	MN21
	Булнайский	MN22
	Тэрхинский	MN23
	Хануйн-Гольский	MN24
	Чулуут-Тамирский	MN25
	Шара-Усынский	MN26
	Хуремальский	MN27
	Заг-Байдрагинский	MN28
	Даланский	MN29

	Туингольский	MN30
	Таац-Онгийский	MN31
	Ханхегшинский	MN32
	Баян-Ундэрский	MN33
	Бага-Гедерын-Ульский	MN34
	Сэрвэн-Дзамар-Ульский	MN35
	Налгар-Ульский	MN36
	Богдо-Хан-Ульский	MN37
	Бага-Хэнтийский	MN38
	Мунгун-Морьтинский	MN39
	Хурхинский	MN40
	Зун-Хэнтийский	MN41
	Оцол-Джанхарский	MN42
	Хойт-Хэрлэнский	MN43
	Тамцаг-Булагский	MN44
	Дариганский	MN45
	Замын-Удский	MN46
Китай и Тибет	Хулун-Буирский	1
	Маньчжурский	2
	Ксилингольский	3
	Эрлянский	4
	Джунгарский	5
	Боро-Хоринский	6
	Ирен-Хабиргинский	7
	Богдо-Шаньский	8
	Тянь-Шаньский	9
	Памирский	10
	Карангутагский	11
	Алтынтагский	12
	Аркатаг-Бурхан-Буддайский	13
	Няньшаньский	14
	Ордосский	15
	Циньлиньский	16
	Цинхай-Тибетский	17
	Гималайский	18
	Циньхай-Сычуаньский	19
	Юньнаньский горный	20
	Юньнаньский равнинный	21
	Гуандунский	22
	Фуцзянский	23

Краткие сведения о природных очагах стран СНГ

Природные очаги сусликового типа (01, 02, 03, 14, 15, 17, 37, 38) расположены на территории России и Казахстана. Для равнинных характерна периодическая активность с длительными (до 50 и более лет) межэпизоотическими периодами, тогда как для горных очагов характерна постоянная эпизоотическая активность.

Центрально-Кавказский высокогорный очаг (01) был открыт в 1971 году. Его исторические границы, сформировавшиеся в раннеголоценовый период, обусловлены ареалом основного носителя, горного суслика (*Citellus musicus*), и приходятся на северные склоны центральной части Главного кавказского хребта. Площадь очага – 4620 км^2. На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED0, 2.MED1) с высокой универсальной вирулентностью (в восточной и центральной части очага, на правобережье реки Баксан) и слабовирулентные или авирулентные (на всей территории очага). При этом штаммы, выделенные из западной части очага (Верхне-Кубанский и Кубано-Малкинский районы) характеризуются ауксотрофностью (т. е. зависимостью) по пролину, а штаммы, выделенные из восточной части очага (Баксано-Чегемский район), не зависят от него. На территории между западной и восточной частями (Малко-Баксанский район) встречаются как пролинзависимые, так и пролиннезависимые штаммы, однако в последние годы отмечается тенденция к выделению первых. По плазмидному составу у пролинзависимых штаммов идентифицирована дополнительная криптическая плазмида pCKF (2.MED1). Эпизоотии на сусликах регистрируются ежегодно с марта по октябрь, активизируясь в июле-августе.

Основной носитель – горный суслик (*Citellus musicus*). Второстепенные – домовая мышь (*Mus musculus*), лесная мышь (*Apodemus sylvaticus*), обыкновенная полёвка (*Microtus arvalis*).

Основной переносчик [1] – *Citellophilus tesquorum*. Второстепенные – *Ctenophthalmus golovi, Frontopsylla semura, Neopsylla setosa, Ctenophthalmus orientalis, Oropsylla ilovaiskii, Rhadinopsylla li.*

Терско-Сунженский низкогорный очаг (02) был открыт в 1970 году. Его исторические границы, сформировавшиеся в среднем плейстоцене, обусловлены стойкой географической изоляцией поселений малого суслика (*Citellus pygmaeus bohemi*) в Алханчуртовской долине, лежащей между Тер-

[1] Здесь и далее блохи, кроме отдельно оговорённых случаев. Деление на «основных» и «второстепенных» условное, выражающее роль переносчика в очаге.

ским и Сунженским хребтами в предгорьях Большого Кавказа. Площадь очага – 2336 км². На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1) с высокой универсальной вирулентностью. В 1978 году от суслика выделен штамм, вирулентный для белых мышей и слабовирулентный для морских свинок, отнесённый к кавказским (0.PE2). Эпизоотии отмечались в 1970–1971, 2000 годах и развивались на фоне повышенной численности и активности сусликов и их блох в мае-июле.

Основной носитель – малый суслик (*Citellus pygmaeus bohemi*). Второстепенный – лесная мышь (*Apodemus sylvaticus*).

Основные переносчики – *Neopsylla setosa, Citellophilus tesquorum*. Второстепенный – *Ctenophthalmus golovi*.

Дагестанский равнинно-предгорный очаг (03) был открыт в 1951 году. Его исторические границы, сформировавшиеся в раннеголоценовый период, обусловлены ареалом основного носителя, малого суслика (*Citellus pygmaeus bohemi*), и приходятся на берег Каспийского моря, южную часть Северо-Дагестанской низменности, приморскую низменность и предгорья Восточного Кавказа. Площадь очага – 11150 км². На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1) с высокой универсальной вирулентностью, дополнительно ауксотрофные по цистеину и аргинину. В отдельные годы изолировали штаммы, ауксотрофные по пролину. Все проявления чумы (кроме разлитых эпизоотий в 1951–1952 годов) регистрировались на фоне крайне низкой численности сусликов и других грызунов и развивались в мае-июне. Единственный случай заболевания человека чумой зарегистрирован в 1951 году в селе Бабаюрт.

Основной носитель – малый суслик (*Citellus pygmaeus bohemi*). Второстепенные – гребенщиковая песчанка (*Meriones tamariscinus*), домовая мышь (*Mus musculus*), общественная полёвка (*Microtus socialis*).

Основные переносчики – *Neopsylla setosa, Citellophilus tesquorum*. Второстепенные – *Frontopsylla semura, Nosopsyllus laeviceps, Nosopsyllus mokrzeckyi*. Один штамм изолирован от клеща рода *Rhipicephalus*.

Прикаспийский Северо-Западный степной очаг (14) является реликтом древнего очага, занимавшего в среднем плейстоцене обширные пространства Южной Европы. История формирования его современных границ тесно связана с флуктуациями (т. е. случайными изменениями) уровня Каспийского моря в голоцене, ввиду чего в настоящее время он располагается на правом берегу Волги и занимает Сарпинскую низменность с лощиной Даван и возвышенность Ергени (впервые возбудитель чумы выделен в 1913 году). С 1933 по 1960 год включительно на территории очага проводились работы по истреблению основного носителя, ввиду чего очаг считался ликвидированным, однако эпизоотическая активность возобновилась в

1972 году. В 1987 году на фоне опустынивания ландшафта, сокращения поселений и численности основного носителя (малого суслика) с одновременным увеличением плотности песчанок из его состава был выделен Прикаспийский песчаный очаг (43). Площадь очага – 51152 км². На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1) с высокой универсальной вирулентностью. Эпизоотическая активность регистрируется в мае-июне. Эпидемические проявления отмечались с 1878 по 1935 год (за этот период выявлен 1441 заболевший).

Основной носитель – малый суслик (*Citellus pygmaeus bohemi*). Второстепенные – емуранчик (*Scirtopoda telum*), полуденная песчанка (*Meriones meridianus*), лесная мышь (*Apodemus sylvaticus*), степной хорёк (*Mustela eversmanni*). В годы массового размножения мышевидных последние занимали роль основного носителя, что являлось причиной возникновения осенне-зимних эпидемических осложнений.

Основные переносчики – *Neopsylla setosa, Citellophilus tesquorum, Frontopsylla setosa, Ctenophthalmus pollex* (в северных и центральных районах очага).

Волго-Уральский степной очаг (15) был открыт в 1912 году. Его исторические границы, сформировавшиеся в поздний плейстоцен, приходятся на северную часть Волго-Уральского междуречья, занимая Прикаспийскую Низменность до отрогов Общего Сырта. Площадь очага – 85000 км² (Россия – 20873 км², Казахстан – 64127 км²). На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1) с высокой универсальной вирулентностью, дополнительно ауксотрофные по лейцину и цистеину. Именно тут выделяют наименее атипичные штаммы (только 1,58%). Штаммы лизируются чумными и псевдотуберкулезными бактериофагами, высокочувствительны к антибиотикам, не обладают нитрифицирующей и денитрифицирующей активностью, глицеринпозитивны, чувствительны к пестицину. Эпизоотическая активность регистрируется в апреле-июне. Эпидемические проявления отмечались с 1878 по 1933 год (за этот период выявлено 774 заболевших).

Основной носитель – малый суслик (*Citellus pygmaeus*). Второстепенные – домовая мышь (*Mus muscullus*), полуденная песчанка (*Meriones meridianus*), обыкновенная полёвка (*Microtus arvalis*), гребенщиковая песчанка (*Meriones tamariscinus*), хомячок Эверсманна (*Allocricetulus eversmanni*), большой тушканчик (*Allactaga jaculus*), малый тушканчик (*Allactaga elater*), белозубка малая (*Crocidura suaveolens*), пегий путорак (*Diplomesodon pulchellum*), обыкновенная лисица (*Vulpes vulpes*). Возможно заражение домашних животных (кошек, собак) и кочующих верблюдов.

Основные переносчики – *Neopsylla setosa, Citellophilus tesquorum*. По одному штамму изолировано от *Frontopsylla semura, Ctenophthalmus pollex*.

Урало-Уильский[1] *степной очаг* (17) был открыт в 1904 году. Его исторические границы, сформировавшиеся в поздний плейстоцен, приходятся на территорию, расположенную к востоку от реки Урал, ограниченную на севере и северо-востоке Индерской возвышенностью. Площадь очага – 47 100 км². На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1) с высокой универсальной вирулентностью. Штаммы, выделенные в южной части очага, для роста при 28°С требуют метионин, треонин и цистеин. Штаммы, выделенные в северной части очага, в большинстве случаев требуют, помимо указанных аминокислот, лейцин, а один штамм – лейцин, тирозин и аргинин (авирулентен для морских свинок, чувствителен к пестицину – близок к штаммам Закавказского высокогорного очага). Эпизоотическое состояние очага характеризуется нерегулярностью проявления эпизоотического процесса.

Основной носитель – малый суслик (*Citellus pygmaeus*). Второстепенные – домовая мышь (*Mus muscullus*), большой суслик (*Citellus major*), обыкновенный хомяк (*Cricetus cricetus*), обыкновенная полёвка (*Microtus arvalis*), общественная полёвка (*Microtus socialis*), степная пеструшка (*Lagurus lagurus*), малый тушканчик (*Allactaga elater*), полуденная песчанка (*Meriones meridianus*), гребенщиковая песчанка (*Meriones tamariscinus*), большая песчанка (*Rhombomys opimus*), хомячок Эверсманна (*Allocricetulus eversmanni*), степной хорь (*Mustela eversmanni*).

Основные переносчики – *Neopsylla setosa, Citellophilus tesquorum, Ctenophthalmus breviatus*. По одному штамму изолировано от *Frontopsylla semura, Oropsulla ilovaiskii*.

Тувинский горный очаг (37) был открыт в 1964 году. Его исторические границы приходятся на стык хребтов Цаган-Шибету и Западный Танну-Ола, и включают в себя *Кара-Бельдырский, Монгун-Тайгинский, Толайлыгский, Барлыкский, Саглинский* и *Боро-Шайский мезоочаги*[2]. Площадь очага – 7489 км². На территории очага выделены штаммы основного подвида (4.ANT) с высокой универсальной вирулентностью, для которых характерно наличие дополнительной криптической плазмиды и универсальная вирулентность для лабораторных животных. По питательным потребностям штаммы

[1] Ранее Зауральский.

[2] Термин «мезоочаг» (участок очаговости) предложен Борисом Константиновичем Фенюком; под ним понимают относительно небольшой участок автономной области очаговости, иногда сильно ограниченный, но характеризующийся чёткими биотопическими и биоценотическими особенностями по сравнению с окружающими его территориями.

делят на *каргинский вариант* (западная часть), для которого характерна ауксотрофность по метионину и цистеину, и *саглинский вариант* (восточная часть), для которого характерна ауксотрофность только по метионину, а также способность формировать в поздние сроки прототрофные мутанты.

Основной носитель – длиннохвостый суслик (*Citellus undulatus*). Второстепенные – даурская пищуха (*Ochotona dahurica*), плоскочерепная полёвка (*Alticola strelzovi*). В 1967–1968 годах в эпизоотический процесс также вовлекалась монгольская пищуха (*Ochotona pricei*), однако в настоящее время её роль малозначима. В 1984 году в долине реки Барлык на фоне интенсивной разлитой эпизоотии на длиннохвостых сусликах один штамм был выделен от монгольского сурка (*Marmota sibirica*). Также известны единичные случаи выделения чумного микроба от узкочерепной полёвки (*Microtus gregalis*), степного хорька (*Mustella eversmanni*) и тушканчика-прыгуна (*Allactaga saltator*).

Основные переносчики – *Citellophilus tesquorum, Rhadinopsylla li, Oropsylla alaskensis, Frontopsylla elatoides, Neopsylla mana,* а также личинки и нимфы гамазовых клещей и иксодового клеща *Dermacentor nuttali*.

Забайкальский степной очаг (38) был открыт в 1911 году. Его исторические границы, сформировавшиеся в нижнем плейстоцене, приходятся на северную окраину Центрально-Азиатской зоны природной очаговости чумы. Площадь очага – 18150 км². Данный очаг является частью трансграничного очага, включающего Хулун-Буирский (Китай) и Хойт-Хэрленский (Монголия) очаги. На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.ANT3) с высокой универсальной вирулентностью. Штаммы, выделенные во время эпизоотий среди тарбаганов (1923–1946), ауксотрофны по метионину, цистину и фенилаланину, тогда как штаммы, выделенные к 1970 году (во время эпизоотий среди даурского суслика), дополнительно нуждаются в лейцине и цистеине. После 1970 года культуры не выделялись (только ДНК чумного микроба в объектах окружающей среды и серологические находки). Длительный межэпизоотический период связывают с депрессией (т.е. уменьшением) численности носителей, связанной с климатическими и антропогенными факторами (в основном незаконный промысел сурка).

Основной носитель – до 50-х годов XX века тарбаган (*Marmota sibirica*), затем даурский суслик (*Citellus dauricus*), что связано с влиянием антропогенных факторов, таких как охота, истребление с противоэпидемическими целями и так далее. Второстепенные –полёвка Брандта (*Microtus brandti*), узкочерепная полёвка (*Microtus gregalis*). Зарегистрированы единичные случаи заражения тушканчика-прыгуна (*Allactaga saltator*), степного хорька (*Mustela eversmanni*) и солонгоя (*Mustella altaica*).

Основной переносчик – *Citellophilus tesquorum sungaris*. Второстепенные – *Fronopsylla luculenta luculenta, Neopsylla bidentaformis, Neopsylla pleskei, Oropsylla alaskensis (asiatica)*.

Природные очаги сурочьего типа (31–33, 35, 40) расположены на территории Кыргызстана и Казахстана.

Тянь-Шанский высокогорный очаг, включает в себя группу автономных очагов: *Сырыджазский высокогорный* (31), *Верхненарынский высокогорный* (32) и *Аксайский высокогорный* (33). В свою очередь Сырыджазский высокогорный очаг (площадь 7400 км^2; Киргизия – 5000 км^2, Казахстан – 2400 км^2) включает Кокпакский, Кокжарский и Сырыджазский мезоочаги; Верхненадырский высокогорный очаг (площадь 14500 км^2) – Иштык-Тарагайский, Узенгегужский, Акшийракский, Учкельский и Болгартский мезоочаги; Аксайский высокогорный очаг (площадь 8500 км^2) – мезоочаги Западного, Центрального, Южного и Восточного Аксая.

Тянь-Шанский высокогорный очаг был открыт в 1914 году. Его исторические границы приходятся на неширокую полосу (до 100 км) от горного узла Хантенгри на востоке до озера Чатыркель на западе. Площадь очага – 30400 км^2. На территории очага выделены штаммы основного подвида с высокой универсальной вирулентностью: на территории Сырыджазского высокогорного очага – 0.ANT5 (дополнительно ауксотрофны по лейцину и цистеину), на территории Верхненарынского высокогорного очага – 0.ANT3 и 0.ANT5 (дополнительно ауксотрофны по цистеину), на территории Аксайского высокогорного очага – 0.ANT3 (дополнительно ауксотрофны по лейцину) и 2.MED1.

Основной носитель – серый сурок (*Marmota baibacina*). Второстепенные – узкочерепная полёвка (*Microtus gregalis*), серый хомячок (*Cricetulus migratorius*). Известны единичные случаи заражения полёвки обыкновенной (*Microtus arvalis*), полёвки серебристой (*Alticola argentatus*), реликтового суслика (*Citellus relictus*), зайца-толая (*Lepus tolai*), горностая (*Mustela erminea*), степного хорька (*Mustela eversmanni*), барсука (*Meles meles*), обыкновенной лисицы (*Vulpes vulpes*).

Основной переносчик – *Rhadinopsylla li ventricosa, Oropsylla silantiewi, Citellophilus lebedewi*. Второстепенные – *Amalaraeus penicilliger, Amphipsylla asiatica, Amphipsylla primaries, Chaetopsylla homoea, Neopsylla mana, Neopsylla meridiana, Neopsylla teratura, Rhadinopsylla angusta, Rhadinopsylla dahurica*, вши *Neolinognathidae palaeratus*, клещи *Ixodes crenulatus*.

Алайский высокогорный очаг (35) был открыт в 1948 году. Его исторические границы первоначально включали только северо-восток Алайской долины, но по мере обследования горных районов Кыргызстана были обнаружены три крупных участка очаговости – Гульчинский (1975), Восточно-

Алайский и Западно-Алайский (1988). Площадь очага – 4600 км². На территории очага выделены штаммы основного подвида (0.ANT3, 0.ANT7) с высокой универсальной вирулентностью. Ферментируют глицерин и арабинозу, не ферментируют рамнозу. Дополнительно ауксотрофны по лейцину. Обладают денитрифицирующей способностью, продуцируют пестицин и не чувствительны к нему. Выделенный в июне 1968 года от блох *Amalaraeus penicilliger*, собранных из шерсти узкочерепной полёвки (*Microtus gregalis*), штамм *Y. pestis* 801 оказался ауксотрофным по лейцину и аргинину, ферментировал рамнозу на третьи сутки, не восстанавливал нитраты и был слабовирулентным для морских свинок. Выделенный от основного носителя в 1961 году в Алайской долине штамм *Y. pestis* 296 оказался прототрофным, а его мутант обладал высокой вирулентностью для лабораторных животных.

Основной носитель – красный сурок (*Marmota caudata*). Второстепенные – узкочерепная полёвка (*Microtus gregalis*), памирская полёвка (*Microtus juldaschi*), серебристая полёвка (*Alticola argentatus*), обыкновенная слепушонка (*Ellobius talpinus*), серый хомячок (*Cricetulus migratorius*), лесная мышь (*Apodemus sylvaticus*), домовая мышь (*Mus musculus*), туркестанская крыса (*Rattus turkestanicus*), лесная соня (*Dyromys nitedula*), большеухая пищуха (*Ochotona roylei*), красная пищуха (*Ochotona rutila*), заяц-толай (*Lepus tolai*), светлый хорь (*Mustela eversmanni*), горностай (*Mustela erminea*), ласка (*Mustela nivalis*), барсук (*Meles meles*).

Основной переносчик – *Citellophilus lebedewi, Pulex irritans, Oropsylla silantiewi, Rhadinopsylla li ventricosa.* Второстепенные – *Amalaraeus penicilliger, Amphipsylla primaries.*

Таласский высокогорный очаг (40) был открыт в 1977 году. Его исторические границы включают северные склоны хребта Таласский Алатау, на которых располагаются минимум три изолированные и, вероятно, не связанные участка очаговости, из которых два, Бешташский и Манасский, представляют определённый интерес. Площадь очага – 9942 км² (Киргизия – 5500 км, Казахстан – 4442 км²). В настоящее время очаг является эпидемически неактивным, однако имеются предпосылки, определяющие возможность его активизации, среди которых встречаемость высокоактивных переносчиков *Pulex irritans*, а также выраженная миграция блох из нор красных сурков (*Marmota caudata*).

На территории Бешташского участка очага (эпизоотии с 1980 года) выделены штаммы, отнесённые к гиссарским (0.PE4h). Они высоковирулентны для белых мышей и менее вирулентны для морских свинок (гибель наступает только на 9–12 сутки). Выделенный в 1985 году от лесной мыши (*Apodemus sylvaticus*) на территории урочища Сулубкаир штамм восстанав-

ливал нитраты. Штаммы чумы были выделены от серебристой полёвки (*Alticola argentatus*) и серого хомячка (*Cricetulus migratorius*), а антитела к капсульному антигену выявлены у лесной мыши (*Apodemus sylvaticus*). Один штамм выделен от малой белозубки (*Crocidura suaveolens*), выловленной в урочище Туюк-Умур в мае 1988 года. Кроме того, обитают узкочерепная полёвка (*Microtus gregalis*), лесная соня (*Dyromys nitedula*), обыкновенная слепушонка (*Ellobius talpinus*) и красный сурок (*Marmota caudata*), но от них чумной микроб не выделен. Слабая изученность участка не позволяет однозначно решить вопрос о роли каждого из указанных носителей. Не исключается возможность существования двух сопряжённых очагов чумы – сурочьего и полёвочьего. Переносчиками являются *Callopsylla caspia* (доминирует), *Amphipsylla primaries, Leptopsylla nana, Amphipsylla kuznetzovi, Pectinoctenus nemorosus, Neopsylla pleskei, Frontopsylla protera*.

На территории Манасского участка очага (эпизоотии с 1977 года) выделены штаммы основного подвида (2.MED1) и штаммы, отнесённые к таласским (0.PE4t). Их отличительной особенностью является способность разлагать мочевину. Они синтезируют пестицин, однако данные по чувствительности к собственному пестицину весьма противоречивы. Для роста при 28°С требуют наличия цистеина, фенилаланина, треонина, метионина, валина и лейцина. Основным носителем является красный сурок (*Marmota caudata*), переносчиком – *Citellophilus lebedewi.*

Природные очаги песчаночного типа (07, 08–13, 16, 18–30, 42, 45, 46) расположены на территории России, Казахстана, Туркменистана, Узбекистана, Армении, Азербайджана и Грузии. Очаги 07 и 08–13 объединены в *группу Закавказских природных очагов*, очаги 16 и 43 – в *группу Прикаспийских природных очагов*, а очаги 18–30, 42, 45 и 46 – в *группу Центральноазиатских пустынных очагов чумы*.

Приараксинский низкогорный очаг (07) был открыт в 1967 году. Его исторические границы включают полупустынные и среднегорные степные пояса в левобережье среднего течения реки Аракс в пределах Нахичеванской республики (эксклав Азербайджана) и смежных районов Армении. Площадь очага – 9780 км². На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1), дополнительно ауксотрофные по цистеину, и штаммы, отнесённые к кавказским (0.PE2), генетической линии IIc. Самостоятельность Приараксинского очага чумы является относительной. От Ирано-Курдистанского очага данная территория отделена течением р. Аракс, что не может служить серьезной преградой для проникновения возбудителя инфекции. В 1967 г. отмечен случай заболевания человека чумой с летальным исходом.

Основной носитель – персидская песчанка (*Mieriones persicus*) и песчанка Виноградова (*Meriones vinogradovi*). Второстепенные – малоазийская песчан-

ка (*Meriones tristrami*), полуденная песчанка (*Meriones meridianus*), малый тушканчик (*Allactaga elater*), домовая мышь (*Mus musculus*), общественная полёвка (*Microtus socialis*).

Основной переносчик – *Xenopsylla conformis*. Второстепенные – *Nosopsyllus iranus, Stenoponia tripectinata, Rhadinopsylla cedestis, Coptopsylla lamellifer, Ctenophthalmus secundus, Pulex irritans*. Единичные штаммы выделялись от иксодовых, аргасовых и гамазовых клещей.

Закавказский равнинно-предгорный очаг, включающий в себя *Бозчельский* (08), *Кобыстанский* (09), *Мильско-Карабахский* (10), *Джейранчельский* (11), *Гянджа-Казахский* (12) и *Йорский* (13) *мезоочаги*, был открыт в 1914 году. Его исторические границы включают территорию Кура-Араксинской низменности и окружающих её предгорий Большого и Малого Кавказа. Площадь очага – 25670 км^2. На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1). Штаммы из Бозчельского, Кобыстанского и Мильско-Карабахского мезоочагов дополнительно ауксотрофны по цистеину и аргинину, а штаммы из Джейранчельского мезоочага – по лейцину.

Основной носитель – краснохвостая песчанка (*Meriones erythrourus*). Второстепенные – малоазийская песчанка (*Meriones tristrami*), домовая мышь (*Mus musculus*).

Основной переносчик – *Xenopsylla conformis, Nosopsyllus laeviceps*. Наличие имаго *Xenopsylla conformis* в течение всего года способно обеспечить постоянную циркуляцию возбудителя в популяциях песчанок, тогда как роль блох *Nosopsyllus laeviceps* возрастает лишь в холодный период года, когда их численность преобладает над *Xenopsylla conformis*. Второстепенные – *Coptopsylla caucasica, Rhadinopsylla ucrainica, Stenoponia tripectinata*. Несколько штаммов изолировано от *Mesopsylla apscheronica, Nosopsyllus consimilis, Nosopsyllus mokrzeckyi, Stenoponia secundus*.

Волго-Уральский песчаный очаг (16) был открыт в 1922 году. Его исторические границы, сформировавшиеся в позднем голоцене, что делает его одним из самых молодых, располагаются в Прикаспийской низменности в междуречье Урала и Волги. Границы совпадают с контурами зонального ландшафта песков, включая интразональную Волго-Ахтубинскую пойму. Площадь очага – 65000 км^2 (Россия – 8625 км^2, Казахстан – 56375 км^2). На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1), чаще всего с высокой универсальной вирулентностью (слабовирулентные не более 16,6%, авирулентные 3,1–10,9%), дополнительно ауксотрофные по лейцину. Выделены штаммы, имеющие две дополнительные криптические плазмиды (30 и 70 МДа). Единичные штаммы ферментируют рамнозу на 6–10 сутки, а один штамм способен разлагать мочевину. Большинство штаммов ауксотрофны по метионину, треонину, цистеину, фенилаланину

и валину. В центральной и северной частях очага выделяются лейцинне-зависимые штаммы, в южной части – лейцинзависимые. Эпизоотии развиваются в апреле-мае и в октябре-ноябре. Эпидемические вспышки известны с 1877 года и отмечались вплоть до 1938 года (за этот период выявлен 2421 заболевший).

Основные носители – полуденная песчанка (*Meriones meridianus*) и гребенщиковая песчанка (*Meriones tamariscinus*), то есть очаг полигостальный. Второстепенные – жёлтый суслик (*Citellus fulvus*), малый суслик (*Citellus pigmaeus*), домовая мышь (*Mus musculus*). В отдельные периоды в эпизоотии вовлекались серая крыса (*Rattus norvegicus*), мохноногий тушканчик (*Dipus sagitta*), малый тушканчик (*Allactaga elater*), серый хомячок (*Cricetulus migratorius*), обыкновенная полёвка (*Microtus arvalis*), степная пеструшка (*Lagurus lagurus*), обыкновенная слепушонка (*Ellobius talpinus*) и малая белозубка (*Crocidura suaveolens*).

Основные переносчики – *Xenopsylla conformis, Nosopsyllus laeviceps*. Второстепенные – *Coptopsylla lamellifer, Rhadinopsylla cedestis, Rhadinopsylla bivirgis, Ctenophtalmus dolichus, Neopsylla setosa, Citellophilus tesquorum, Fronopsylla semura, Ctenophthalmus pollex, Oropsylla ilovaiskii, Mesopsylla hebes, Amphipsylla rossica*, иксодовые клещи *Rhipicephalus schulzei, Hyalomma asiaticum.*

Урало-Эмбенский пустынный очаг (18) был открыт в 1951 году. Его исторические границы расположены в пределах Северо-Восточного Прикаспия, значительная часть приурочена к Прикаспийской низменности. Площадь очага – 57 700 км². Очаг в последние годы увеличивается и лишь недавно вышел на территорию ЗападноКазахстанской области вместе с большой песчанкой, расширяющей свой ареал в северном направлении. На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1) с высокой универсальной вирулентностью. Штаммы дополнительно ауксотрофны по цистеину. В фазу острой эпизоотии выделяется наибольшее количество атипичных форм (около 6,5%). Заражение людей в природе в основном ограничивалось единичными случаями. Лишь в декабре 1958 года одновременно заразились 4 человека в результате прирезки больного верблюда.

Очаг полигостальный. Наиболее важным носителем в настоящее время является большая песчанка (*Rhombomys opimus*), однако заметную роль играют малый суслик (*Citellus pygmaeus*), полуденная песчанка (*Meriones meredianus*) и гребенщиковая песчанка (*Meriones tamariscinus*).

Основной переносчик – *Xenopsylla skrjabini.* Второстепенные – *Xenopsylla conformis, Nosopsyllus laeviceps, Nosopsyllus setosa, Citellophilus tesquorum, Coptopsylla lamellifer*.

Предустюртский пустынный очаг (19) был открыт в 1957 году. Его исторические границы ограничены побережьем Каспийского моря на западе, Чаграйским плато на востоке, рекой Эмба на севере и северным и северо-западным чинками (т. е. крутыми обрывами) Устюрта на юге. Площадь очага – 74 000 км². На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1) с высокой универсальной вирулентностью. На западе, в основном в древней дельте реки Эмба, выделяются ауксотрофные по лейцину штаммы.

Основной носитель – большая песчанка (*Rhombomys opimus*). Второстепенные – полуденная песчанка (*Meriones meredianus*), краснохвостая песчанка (*Meriones erythrourus*), малый суслик (*Citellus pygmaeus*).

Основной переносчик – *Xenopsylla skrjabini.* Второстепенные – *Coptopsylla lamellifer, Nosopsyllus laeviceps.*

Устюртский пустынный очаг (20) был открыт в 1958 году. Его исторические границы включают плато Устюрт. Площадь очага – 158000 км² (Казахстан – 88000 км², Узбекистан – 70000 км²). На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1) с высокой универсальной вирулетностью (данные по штаммам, выделяемым с казахстанской части очага). На севере (пески Сам, солончаковые впадины) выделяются штаммы, дополнительно ауксотрофные по лейцину, в остальных частях очага – смешанные.

Основной носитель – большая песчанка (*Rhombomys opimus*). Второстепенные – краснохвостая песчанка (*Meriones erythrourus*), малый суслик (*Citellus pygmaeus*).

Основной переносчик – *Xenopsylla skrjabini.* Второстепенные – *Xenopsylla nuttalli* (юго-западные районы), *Xenopsylla gerbilli caspica* (южные районы), *Nosopsyllus laeviceps, Rhadinopsylla cedestis.*

Северо-Приаральский пустынный очаг (21) был открыт в 1945 году. Его исторические границы включают северное побережье Аральского моря. Площадь очага – 46 500 км². На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1) с высокой универсальной вирулетностью. Штаммы дополнительно ауксотрофны по цистеину. Первая вспышка чумы на территории Северо-Приаральского очага была зарегистрирована в 1945 году в посёлке Авань, расположенном на полуострове Кокарал (выявлено 197 заболевших). С этого момента на описываемой территории периодически регистрировались больные чумой. Эпизоотический процесс протекает с апреля по ноябрь (крайне редко в зимние месяцы) с пиковой активностью в весенне-летний (апрель-июнь) и осенний (сентябрь-октябрь) периоды.

Основной носитель – большая песчанка (*Rhombomys opimus*). Установлено спонтанное носительство у краснохвостой песчанки (*Meriones erythrourus*), полуденной песчанки (*Meriones meredianus*), малого суслика (*Citellus pygmaeus*), жёлтого суслика (*Citellus fulvus*), большого тушканчика (*Allactaga jaculus*), малого тушканчика (*Allactaga elater*), мохноногого тушканчика (*Dipus sagitta*), домовой мыши (*Mus musculus*), общественной полёвки (*Microtus socialis*), емуранчика (*Scirtopoda telum*), хомячка Эверсманна (*Allocricetulus eversmanni*), зайца-русака (*Lepus europaeus*), степного хоря (*Mustela eversmanni*), ласки (*Mustela nivalis*), горностая (*Mustela erminea*), перевязки (*Vormela peregusna*), обыкновенной лисицы (*Vulpes vulpes*), корсака (*Vulpes corsak*).

Основной переносчик – *Xenopsylla skrjabini.* Второстепенные – *Coptopsylla lamellifer, Nosopsyllus laeviceps.*

Арыскумско-Дарьялыктакырский[1] *пустынный очаг* (22) был открыт в 1947 году. Его исторические границы ограничены западной окраиной равнины Дарьялыктакыр и чинками урочища Кызылкия, междуречьем реки Белеудты и сухого русла Талдыэспессай (на севере), рекой Сарысу и разливами реки Чу (на востоке), и рекой Сырдарьёй (на юге). Площадь очага – 47000 км^2. На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1) с высокой универсальной вирулентностью.

Основной носитель – большая песчанка (*Rhombomys opimus*). Второстепенные – полуденная песчанка (*Meriones meredianus*), жёлтый суслик (*Citellus fulvus*). На глинистых почвах северной части очага ведущая роль иногда переходит к краснохвостой песчанке (*Meriones erythrourus*), в песках Арыскумы велико значение полуденной песчанки (*Meriones meredianus*) и желтого суслика (*Citellus fulvus*).

Основной переносчик – *Xenopsylla skrjabini, Xenopsylla gerbilli minax* (в песках Арыскумы). Второстепенные – *Coptopsylla lamellifer, Nosopsyllus laeviceps.*

Мангистаукский[2] *пустынный очаг* (23) был открыт в 1926 году. Его исторические границы включают полуострова Мангышлак и Бузачи. Площадь очага – 67000 км^2. На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1) с высокой универсальной вирулентностью. В районах Горного Мангышлака и на полуострове Бузачи выделяются штаммы, ауксотрофные по лейцину. Последняя вспышка чумы зарегистрирована в посёлке Жынгылды в 1999 году (выявлено 3 заболевших). Начиная с 2002 года эпизоотии чумы регистрируются постоянно.

[1] Ране Зааральский.

[2] Ранее Мангышлакский.

Основной носитель – большая песчанка (*Rhombomys opimus*). Второстепенные – полуденная песчанка (*Meriones meredianus*), краснохвостая песчанка (*Meriones erythrourus*), жёлтый суслик (*Citellus fulvus*).

Основной переносчик – *Xenopsylla skrjabini, Xenopsylla nuttalli.* Второстепенные – *Coptopsylla lamellifer, Nosopsyllus laeviceps.*

Приаральско-Каракумский пустынный очаг (24) был открыт в 1947 году. Его исторические границы включают северную подзону пустынь к северо-востоку от Аральского моря. Площадь очага – 75 000 км^2. На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1) с высокой универсальной вирулентностью.

Основной носитель – большая песчанка (*Rhombomys opimus*). Второстепенные – полуденная песчанка (*Meriones meredianus*), краснохвостая песчанка (*Meriones erythrourus*). Носительство чумы установлено у 25 видов диких млекопитающих (максимальное количество среди Центрально-Азиатских пустынных очагов)

Основной переносчик – *Xenopsylla skrjabini.* Второстепенные – *Coptopsylla lamellifer, Nosopsyllus laeviceps.*

Каракумский пустынный (25) был открыт в 1949 году. Его исторические границы ограничены территорией песчаной пустыни Каракумы. Площадь очага – 360000 км^2. На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1). Они ферментируют глицерин, но не ферментируют лактозу, при этом некоторые штаммы способны ферментировать рамнозу на 1–15 сутки. Редко выделялись бесфракционные штаммы и штаммы со сниженным синтезом капсульного антигена.

Основной носитель – большая песчанка (*Rhombomys opimus*). Второстепенные – полуденная песчанка (*Meriones meredianus*), краснохвостая песчанка (*Meriones erythrourus*), жёлтый суслик (*Citellus fulvus*). Культуры чумного микроба выделялись также от гребенщиковой песчанки (*Meriones tamariscinus*), тонкопалого суслика (*Spermophilopsis leptodactylus*), мохноногого тушканчика (*Dipus sagitta*), гребнепалого тушканчика (*Paradipus ctenodactylus*), малого тушканчика (*Allactaga elater*), пегого путорака (*Diplomesodon pulchellum*), обыкновенной слепушонки (*Ellobius talpinus*), зайца-толая (*Lepus tolai*), корсака (*Vulpes corsak*), ласки (*Mustela nivalis*), перевязки (*Vormela peregusna*), а также одногорбого верблюда (*Camelus dromedarius*) и домашней кошки (*Felis catus*).

Основной переносчик – *Xenopsylla hirtipes, Xenopsylla gerbilli caspica* (в Сарыкамышской впадине), *Xenopsylla gerbilli gerbilli* (в Юго-Восточных Каракумах). Второстепенные – *Xenopsylla nittalli, Xenopsylla conformis, Coptopsylla*

lamellifer, Coptopsylla olgae, Nosopsyllus turkmenicus, Oropsylla ilovaiskii, Neopsylla setosa.

Копетдагский равнинно-предгорный очаг (26) был открыт в 1955 году. Его исторические границы включают северо-западную оконечность Туркмено-Хорасанской горной системы. Площадь очага – 15000 км². На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1).

Основной носитель – краснохвостая песчанка (*Meriones erythrourus*), а в западной и юго-западной части очага – большая песчанка (*Rhombomys opimus*). Второстепенные – афганская полёвка (*Meriones afghanus*), персидская песчанка (*Meriones persicus*), общественная полёвка (*Meriones socialis*).

Основной переносчик – *Xenopsylla gerbilli gerbilli, Xenopsylla conformis, Xenopsylla nittalli, Nosopsyllus laeviceps.* Второстепенные – *Nosopsyllus turkmenicus altisetus, Coptopsylla lamellifer, Coptopsylla bairamaliensis, Stenoponia vlasovi, Echidnophaga oschanini.*

Кызылкумский пустынный очаг (27) был открыт в 1924 году. Его исторические границы ограничены территорией песчаной пустыней Кызылкум. Площадь очага – 385000 км² (Казахстан – 140000 км², Узбекистан – 230000 км², Туркменистан – 15000 км²). На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1) с высокой универсальной вирулентностью (данные по штаммам, выделенным с казахстанской части). Кроме того, выделено четыре штамма ауксотрофных по аргинину, которые, несмотря на наличие всех детерминант вирулентности, обладают низкой вирулентностью для морских свинок и белых мышей. Выделяют единичные штаммы, ауксотрофные по лизину, и несколько больше – по лейцину. Выделены штаммы, рост которых зависит только от цистеина. Выделено 12 бесфракционных штаммов, три из которых обладают низкой вирулентностью для белых мышей.

Основной носитель – большая песчанка (*Rhombomys opimus*). Второстепенные – полуденная песчанка (*Meriones meredianus*), краснохвостая песчанка (*Meriones erythrourus*). Культуры чумного микроба выделялись также от гребенщиковой песчанки (*Meriones tamariscinus*), тонкопалого суслика (*Spermophilopsis leptodactylus*), жёлтого суслика (*Citellus fulvus*), мохноногого тушканчика (*Dipus sagitta*), малого тушканчика (*Allactaga elater*), тушканчика Лихтенштейна (*Eremodipus lichtensteini*), обыкновенной слепушонки (*Ellobius talpinus*), домовой мыши (*Mus musculus*), зайца-толая (*Lepus tolai*), перевязки (*Vormela peregusna*), а также верблюда.

Основной переносчик – *Xenopsylla gerbilli caspica, Xenopsylla hirtipes, Xenopsylla skrjabini, Xenopsylla gerbilli minax.* Второстепенные – *Nosopsyllus tersus, Coptopsylla lamellifer, Nosopsyllus turkmenis, Echidnophaga oschanini, Paradoxopsyllus teretifrons, Rhadinopsylla cedestis, Rhadinopsylla social, Coptopsylla*

olgae, Coptopsylla bairamaliensis, Synosternus longispinus, Stenoponia vlasovi, Stenoponia conspecta.

Муюнкумский пустынный очаг (28) был открыт в 1958 году. Его исторические границы ограничены контурами песков Муюнкум, расположенных в северной части песчаных пустынь Туранской равнины в низовьях Чу-Таласского междуречья. Площадь очага – 93000 км². На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1) с высокой универсальной вирулентностью, большинство из которых не проявляют нитрифицирующей и дентрифицирующей активности. У ряда штаммов в момент выделения отмечен рост ахромогенных, слабозернистых рыхлых колоний. Кроме того, выделены высоковирулентный штамм, не ферментирующий глицерин, и авирулентный штамм, ауксотрофный по аргинину, а также бесфракционные штаммы. Отдельные штаммы ауксотрофны по аргинину, изолейцину и валину, другие – по цистеину. Летние эпизоотии регистрируются только в годы после весенних острых и разлитых эпизоотий. Официально зарегистрированных случаев заболеваний людей в Мойынкумах нет, но известны рассказы местных жителей и описание в архивных документах Мойынкумского района о вспышках похожих на эту инфекцию. Описан случай заражения лаборанта Мойынкумским штаммом чумного микроба при экспериментальных работах.

Основной носитель – большая песчанка (*Rhombomys opimus*). Второстепенные – полуденная песчанка (*Meriones meredianus*), краснохвостая песчанка (*Meriones erythrourus*), жёлтый суслик (*Citellus fulvus*).

Основной переносчик – *Xenopsylla gerbilli minax.* Второстепенные – *Coptopsylla lamellifer, Nosopsyllus laeviseps, Xenopsylla conformis, Echidnophaga oschanini, Cotopsylla trispinus,* клещи родов *Ornithodorus, Hyalomma, Haemaphysalis, Rhipicephalus.*

Таукумский пустынный очаг (29) был открыт в 1949 году (первая эпизоотия обнаружена осенью 1964 года). Его исторические границы ограничены контурами песчаной пустыни Таукум. Площадь очага – 30 000 км². На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1) с высокой универсальной вирулентностью, часть из которых не нуждается в треонине, но нуждается в цистеине. В последние годы эпизоотии протекают беспрерывно.

Основной носитель – большая песчанка (*Rhombomys opimus*). Второстепенный – полуденная песчанка (*Meriones meredianus*). В Чу-Илийском пустынном низгорье и на предгорной равнине второстепенным носителем является краснохвостая песчанка (*Meriones erythrourus*).

Основной переносчик – *Xenopsylla skrjabini, Xenopsylla hirtipes, Xenopsylla gerbilli minax*. Второстепенные – *Xenopsylla conformis, Paradoxopsyllus teretifrons, Coptopsylla lamellifer* (осенью), *Ctenophtalmus dolichus* (осенью).

Прибалхашский пустынный очаг (30) был открыт в 1948 году. Его исторические границы, сформировавшиеся в ходе альпийского орогенеза в третичном периоде, включают Балхаш-Алакольскую впадину. Площадь очага – 70 000 км² (имеется тенденция к дальнейшему расширению в восточном направлении). На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1), ауксотрофные по цистеину. Часть выделенных штаммов также являются ауксотрофными по триптофану, другая часть – по треонину. Выделялись бесфракционные штаммы и штаммы со сниженным синтезом капсульного антигена. В 1993 году от блох большой песчанки (*Rhombomys opimus*) выделен штамм S-формы. В 1998 году в Илийской котловине среди глицериннегативных штаммов выделены диссоциирующие по ферментации глицерина (т. е. имеющие как глицеринпозитивные, так и глицеринегативные клетки[1]).

Основной носитель – большая песчанка (*Rhombomys opimus*). Второстепенный – полуденная песчанка (*Meriones meredianus*). В Прикаратальской части (с 1990 года) и в Илийской котловине второстепенным носителем является краснощёкий суслик (*Citellus erythrogenys*). Культуры чумного микроба выделялись также от гребенщиковой песчанки (*Meriones tamariscinus*), тонкопалого суслика (*Spermophilopsis leptodactylus*), мохноногого тушканчика (*Dipus sagitta*), тушканчика Лихтенштейна (*Eremodipus lichtensteini*), пегого путорака (*Diplomesodon pulchellum*), зайца-толая (*Lepus tolai*), корсака (*Vulpes corsak*), ласки (*Mustela nivalis*).

Основной переносчик – *Xenopsylla skrjabini, Xenopsylla hirtipes, Xenopsylla gerbilli minax*. Второстепенные – *Xenopsylla conformis, Paradoxopsyllus teretifrons, Paradoxopsyllus repandus* (в Илийской котловине).

Бетпакдалинский пустынный очаг (42) был открыт в 1959 году. Его исторические границы включают пустыню Бетпак-Дала. Площадь очага – 60 000 км² (имеется тенденция к дальнейшему расширению в северном направлении). На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1) с высокой универсальной вирулентностью.

Основной носитель – краснохвостая песчанка (*Meriones erythrourus*). Второстепенный – краснощёкий суслик (*Citellus erythrogenys*). На опреснённых территориях основным носителем могут выступать большая песчанка (*Rhombomys opimus*) и полуденная песчанка (*Meriones meredianus*); в урочище Чулак-Эспе – жёлтый суслик (*Citellus fulvus*).

[1] Данный феномен показан на Рис. 31.3.

Основной переносчик – *Xenopsylla conformis, Xenopsylla gerbilli minax, Xenopsylla skrjabini.*

Прикаспийский песчаный очаг (43) был выделен в 1987 году из состава Прикаспийского Северо-Западного степного очага (14) в связи с опустыниванием ландшафта, сокращением поселений и численности основного носителя (малого суслика) и одновременным увеличением плотности песчанок. Его границы включают восточную часть Северо-Западного Прикаспия, начиная с низовьев реки Волги на северо-востоке до низовьев реки Терек на юге, ограничивая на востоке береговой линей Каспийского моря. Площадь очага – 63276 км^2. На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1) с высокой универсальной вирулентностью, дополнительно ауксотрофные по лейцину, из которых около 7% являются атипичными (P^- и $pCad^-$). Сезонные проявления чумы в популяциях носителей приурочены к апрелю-июню и октябрю-ноябрю. Крупные эпидемические вспышки известны с 1923 по 1936 год. Единичные заболевания чумой среди людей отмечены в 1947, 1948, 1979 годах (за этот период выявлено 128 заболевших).

Основные носители – полуденная песчанка (*Meriones meredianus*), гребенщиковая песчанка (*Meriones tamariscinus*), малый суслик (*Citellus pigmaeus*). Последний до 1954 года был единственным основным носителем. Второстепенные – серый хомячок (*Cricetulus migratorius*), общественная полёвка (*Microtus socialis*), обыкновенная полёвка (*Microtus arvalis*), домовая мышь (*Mus musculus*), полевая мышь (*Apodemus agrarius*), большой тушканчик (*Allactaga jaculus*), малый тушканчик (*Allactaga elater*), емуранчик (*Scirtopoda telum*), ондатра (*Ondatra zibethica*), малая белозубка (*Crocidura suaveolens*). В 1936, 1938, 1946 и 1988 годах чумной микроб выделяли от серой крысы (*Rattus norvegicus*).

Основной переносчик – *Nosopsyllus laeviseps, Neopsylla setosa, Citellophilus tesquorum.* Второстепенные – *Nosopsyllus mokrzecki, Frontopsylla semura, Mesopsylla hebes, Xenopsylla conformis, Nosopsyllus consimilis, Amphipsylla rossica*.

Приалакольский низкогорный очаг (45) был открыт в 2000–2002 годах. Его исторические границы включают часть Балхаш-Алакольской низменности. Площадь очага – 2850 км^2. На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1).

Основной носитель – большая песчанка (*Rhombomys opimus*). Второстепенный – полуденная песчанка (*Meriones meredianus*), краснохвостая песчанка (*Meriones erythrourus*), краснощёкий суслик (*Citellus erythrogenys*).

Основной переносчик – *Xenopsylla gerbilli minax, Xenopsylla skrjabini.*

Илийский межгорный очаг (46) был открыт в 2000–2002 годах. Его исторические границы включают Илийский район Казахстана. Выделен из территории Прибалхашского пустынного очага (30) ввиду отсутствия связи популяций основного носителя в Илийской котловине с поселениями этого вида в Южном Прибалхашье и отличий в цикличности эпизоотий чумы. Площадь очага – 23900 км^2. На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1) с высокой универсальной вирулентностью.

Основной носитель – большая песчанка (*Rhombomys opimus*). Второстепенный –краснохвостая песчанка (*Meriones erythrourus*).

Основной переносчик – *Xenopsylla skrjabini, Xenopsylla hirtipes.*

Природные очаги полёвочьего типа (04–06, 34, 39) расположены на территории России, Таджикистана, Грузии и Армении.

Закавказский высокогорный очаг, включающий в себя *Гюмрийский*[1] (04), *Присеванский* (05) и *Зангезуро-Карабахский* (06) *мезоочаги*, был открыт в 1958 году. Его исторические границы включают центральную, северо-западную и юго-восточную части Закавказского нагорья. Площадь очага – 26430 км^2. На территории очага выделены штаммы, отнесённые к кавказским (0.PE2), которые ферментируют рамнозу на 1–2 сутки, высоковирулентны для белых мышей и обыкновенных полёвок, но слабовирулентны для морских свинок, малых сусликов и полуденных песчанок. Отличаются быстрыми темпами роста на питательных средах (к концу первых суток). Некоторые штаммы ауксотрофны по лейцину и цистеину. Штаммы из Ленинканского мезоочага относятся к генетической линии III, из Присеванского – IIa, из Зангезуро-Карабахского – IIb. Эпизоотии отмечаются во все сезоны года, кроме зимнего, чаще в конце весны и осенью. Единичные случаи заболевания человека чумой зарегистрированы в 1958, 1969 и 1975 годах.

Основной носитель – обыкновенная полёвка (*Microtus arvalis transcaucasicus*). Второстепенные – общественная полёвка (*Microtus socialis*), снежная полёвка (*Microtus nivalis*), водяная полёвка (*Arvicola terrestris*), серый хомячок (*Cricetulus migratorius*), малоазийский хомячок (*Mesocricetus raddei*), лесная мышь (*Apodemus sylvaticus*), домовая мышь (*Mus musculus*), лесная соня (*Dyromys nitedula*), малоазийский суслик (*Citellus xanthoprymnus*), обыкновенная кутора (*Neomys fodiens*), ласка (*Mustela nivalis*).

Основные переносчики – *Amphipsylla rossica, Callopsylla caspia, Ctenopthalmus teres, Frontopsylla elata caucasica, Nosopsyllus consimilis, Ctenopthalmus wladimiri*.

[1] Ранее – Ленинканский горный.

Гиссарский высокогорный очаг (34) был открыт в 1970 году. Его исторические границы включают северный макросклон Гиссарского хребта. Площадь очага – 400 км². На территории очага выделены штаммы, отнесённые к гиссарским (0.PE4h), большинство из которых ауксотрофны по аргинину и обладают слабой уреазной активностью, часть чувствительна к пестицину. Значительная часть штаммов (17–75%) чувствительна к пестицину (в том числе своему). Растут на средах с добавлением цистеина, метионина, фенилаланина, лейцина.

Основной носитель – арчовая полёвка (*Microtus carruthersi*). Второстепенные – красный сурок (*Marmota caudata*), серебристая полёвка (*Alticola argentatus*), серый хомячок (*Cricetulus migratorius*), лесная мышь (*Apodemus sylvaticus*). С 1970 по 1991 год в качестве второстепенного носителя также выступали лесная соня (*Dyromys nitedula*), ласка (*Mustela nivalis*) и горностай (*Mustela erminea*). Антитела к капсульному антигену также были обнаружены у каменки (*Oenanthe sp.*). Не исключено проникновение в очаг чёрной крысы (*Rattus norvegicus*).

Основные переносчики – *Citellophillus lebedewi, Rhadinopsylla liventricosa*. В 1970 году чумной микроб был выделен от *Oropsylla silantiewi*. Сообщается об обнаружении *Xenopsylla cheopis* (без выделения культуры) и выделении чумного микроба от иксодового клеща рода *Laelaptidae*.

Восточно-Кавказский высокогорный очаг (39) был открыт в 1977 году. Его исторические границы включают северные склоны хребтов Восточного Кавказа. Площадь очага – 23420 км². На территории очага выделены штаммы, отнесённые к кавказским (0.PE2), генетической линии I, которые сходны со штаммами, выделяемыми из Закавказского высокогорного очага. Проявляют избирательную вирулентность. В частности, значительно большее количество штаммов слабовирулентны для белых мышей. Так называемые «дагестанские высокогорные» штаммы растут на средах с добавлением аргинина, фенилаланина, лейцина, тиамина и сульфата натрия. Неоднородны по отношению к кальцию: из 32 изученных штаммов у 27 преобладали кальцийзависимые клетки, тогда как у 5 штаммов – кальцийнезависимые (от 56 до 100%). Проявления чумы в поселениях полевок локальны, кратковременны, с низкой интенсивностью и приурочены к июлю-сентябрю

Основной носитель – обыкновенная полёвка (*Microtus arvalis*). Установлено носительство у гудаурской полёвки (*Chionomys gud*), кустарниковой полёвки (*Microtus majori*), дагестанской полёвки (*Microtus daghestanicus*), водяной полёвки (*Arvicola terrestris*), серого хомячка (*Cricetulus migratorius*), лесной мыши (*Apodemus sylvaticus*), домовой мыши (*Mus musculus*).

Переносчики – *Callopsylla caspia, megabortis turbidus, Amalaraeus dissimilis, Frontopsylla elata caucasica*. На Кокмадагском участке *Ctenopthalmus intermedius* и *Ctenopthalmus golovi.*

Природный очаг пищухового типа, *Горно-Алтайский высокогорный очаг* (36), являющийся частью трансграничного Сайлюгемского очага, был открыт в 1961 году. Его историческая территория включает южную часть Восточно-Алтайской горной области. Площадь очага – 11597 км². На территории очага с 2012 года выделяются штаммы основного подвида (4.ANT), а до 2012 года выделялись штаммы, отнесённые к алтайским (0.PE4a), среди которых изредка встречаются атипичные. Штаммы кластера 0.PE4a-1-1 выделены на территории Курайского мезоочага в 2009–2019 годах, штаммы кластера 0.PE4a-1-2 выделены на территории Тархатинского мезоочага в 2012–2020 годах, а штаммы кластера 0.PE4a-2-2 выделены на территории Уландрыкского мезоочага в 1965–2010 годах. В 2012 году в урочище Большие Сары-Гобо из трупа длиннохвостого суслика (*Citellus undulatus*) был выделен штамм основного подвида (4.ANT), занесённый, согласно молекулярно-генетическим исследованиям, из очага Хуух-Сэрх-Мун-Хаирхан (Монголия). Наиболее вероятным механизмом заноса стал перенос инфицированных блох птицами, предположительно, каменкой-плясуньей (*Oenanthe isabellina*).

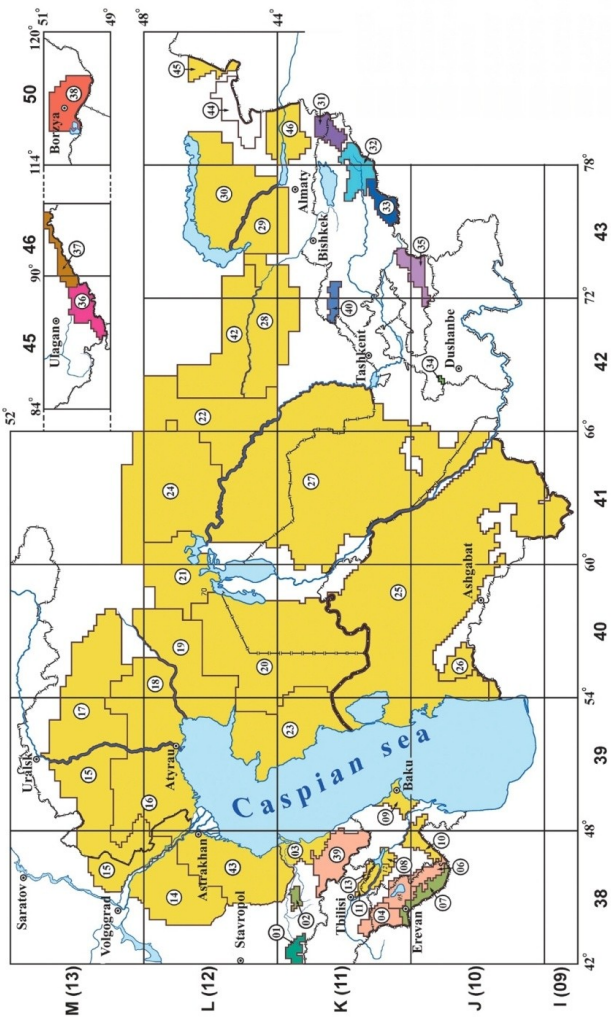
Очаг полигостальный, основную роль в котором играет серый сурок (*Marmona baibacina*), а до недавнего времени – монгольская пищуха (*Ochotona pricei*). Дополнительные – даурская пищуха (*Ochotona daurica*), плоскочерепная полёвка (*Alticola strelzovi*), длиннохвостый суслик (*Citellus undulatus*). Второстепенные – алтайская пищуха (*Ochotona alpina*), алтайский сурок (*Marmota baibacina*), джунгарский хомячок (*Phodopus sungorus*), тушканчик-прыгун (*Allactaga saltator*), степной хорь (*Mustela eversmanni*), заяц-толай (*Lepus tolai*).

Основные переносчики – *Amphalius runatus, Ctenophyllus hirticrus, Frontopsylla hetera, Paradoxopsyllus scorodumovi, Rhadinopsylla dahurica, Amphipsylla primaries primaries*. Второстепенные – *Rhadinopsylla li transbaikalica, Paramonopsyllus scalonae, Paramonopsyllus dashidorzhii, Citellophilus tesquorum altaicus, Neopsylla mana, Oropsylla silantiewi, Paraneopsylla ioffi, Wangeria longicauda.*

Природный очаг «смешанного» типа (полёвочье-сусликово-сурочий), *Джунгарский горный очаг* (44), был открыт в конце прошлого столетия. Его исторические границы включают Джунгарские горы. Площадь очага – около 15500 км². На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1).

Основные носители – киргизская полевка (*Microtus kirgisorum*), длиннохвостый суслик (*Citellus undulatus*) и, видимо, серый сурок (Marmota baibacina).

Основной переносчик – *Citellophilus tesquorum, Ctenophthalmus assimilis, Frontopsylla elata, Oropsylla silantiewi.*



Обзорная карта природных очагов стран СНГ
(по Г. А. Ерошенко, 2022)

Краткие сведения о природных очагах Монголии

Природные очаги сурочьего типа.

Тавын-Богдо-Ульский (Таван-Богдо-Ульский) очаг (MN01) был открыт в 2010 году. Его исторические границы включают Баян-Ульгийский аймак (Цэнгэл сомон) на прилегающих к горному массиву Тавын-Богдо-Ул хребтах. На территории очага выделены штаммы основного подвида (4.ANT), отличающиеся наличием дополнительной криптической плазмиды pTP33, а также улегейские штаммы (0.PE5/2-2). Основной носитель – серый сурок (*Marmota baibacina*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Хархира-Тургенский очаг (MN03) был открыт в 1946 году. Его исторические границы включают Убсунурский (Увс) аймак (Бухмурен, Сагил, Тургэн, Тариалан, Ховд сомоны). На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT2; с 1969 года не выделяются). Основной носитель не определён. Чумной микроб выделялся от монгольского сурка (*Marmota sibirica*), длиннохвостого суслика (*Urocitellus undulatus*), монгольской пищухи (*Ochotona pallasi*) и даурской пищухи (*Ochotona dauurica*). Переносчик – *Rhadinopsylla dahurica, Oropsylla silantiewi, Ctenophyllus hirticrus.*

Цэнгел-Хайрханский очаг (MN04) был открыт в 1989 году. Его исторические границы включают западную часть Баян-Ульгийского аймака (Алтай, Сагсай сомоны) на хребте Цэнгел-Хайрхан по левобережью реки Сагсай. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT) и штаммы, отнесённые к улегейским (0.PE5/2-2). Основной носитель – серый сурок (*Marmota baibacina*). Основной переносчик – Oropsylla silantiewi.

Эзерлег-Буянт-Ульский очаг (MN06) был открыт в 1989 году. Его исторические границы включают часть Баян-Ульгийского аймака (Сагсай сомон) западнее и юго-западнее озера Толбо-Нур (Толбо, Буянт, Алтай сомоны). На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT) и штаммы, отнесённые к улегейским (0.PE5/2-1). Основной носитель – серый сурок (*Marmota baibacina*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Хуух-Сэрх-Мунх-Хайраканский очаг (MN07) был открыт в 1982 году. Его исторические границы включают Баян-Ульгийский и Кобдосскоймский аймаки. Очаг включает в себя 8 мезоочагов, которые иногда выделяют в самостоятельные очаги. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT), в том числе отличающиеся наличием дополнительной криптической плазмиды pTP33 (4.ANT), а также штаммы, отнесённые к улегейским (0.PE5/2-1). Основной носитель – серый сурок (*Marmota baibacina*). На юго-западе очага основным носителем является монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Улан-Сундуйский (Их-Улан-Даванский, Буратинский) очаг (MN08) был открыт в середине 80-х годов прошлого столетия. Его исторические границы включают аймак Ховд. Высказано мнение, что эпизоотические события в районе озера Бугат-нуур территориально связаны с данным очагом, а не Хуух-Сэрх-Мунх-Хайраканским очагом. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Сутайский (Сутайско-Дарвийский) очаг (MN09) был открыт в 1952 году. Его исторические границы включают горный узел Сутай (Дарви и Цэцэг сомоны аймака Ховд, Дарви и Тонхил сомоны Гоби-Алтайского аймака). На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). От неопределённого вида блох выделен один штамм, отнесёный к алтайским (0.PE4a-2-1). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Хасагдский очаг (MN10) был открыт в 1948 году. Рядом исследователей выделяется в качестве участка единого очага Монгольского Алтая. Его исторические границы включают горную гряду Хасагд-Богд-уул. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Тайширский очаг (MN11) был открыт в середине прошлого столетия. Рядом исследователей выделяется в качестве участка единого очага Монгольского Алтая. Его исторические границы включают горный хребет Тайшири. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Бурхан-Будайский очаг (MN12) был открыт в 1972 году. Рядом исследователей выделяется в качестве участка единого очага Монгольского Алтая. Его исторические границы ограничены от хребта Азаргын Нуруу на западе почти до хребта Гичгений Нуруу на востоке. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). В 1973 году отмечено вымирание второстепенного носителя, монгольской пищухи (*Ochotona pallasi*), от неизвестных причин. Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Аж-Богдинский очаг (MN13) был открыт в середине прошлого столетия. Рядом исследователей выделяется в качестве участка единого очага Монгольского Алтая. Его исторические границы включают горную систему Аж-Богд-уул. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT) и штаммы, отнесённые к улегейским (0.PE5/1). Основной носи-

тель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Гичгэнский очаг (MN14) был открыт в 1954 году. Рядом исследователей выделяется в качестве участка единого очага Монгольского Алтая. Его исторические границы включают хребет Гичгений Нуруу. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Хан-Хухэйский очаг (MN17) был открыт в 1944 году. Его исторические границы включают восточную часть хребта Хан-Хухэй. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Сонгино-Тудэвский очаг (MN18) был открыт в 1954 году. Его исторические границы включают северную часть Завханского аймака (Сонгино, Баянхайрхан, Тудэвтэй сомоны). На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Яру-Богдынский очаг (MN19) был открыт в 1893 году. Его исторические границы включают западный макросклон Хангайской горной системы. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT) и штаммы, отнесённые к алтайским (0.PE4a-2–1). Также выделяются штаммы основного подвида (4.ANT), отличающиеся наличием дополнительной криптической плазмиды pTP33. Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Второстепенный – длиннохвостый суслик (*Urocitellus undulatus*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Буянт-Гольский (Буянт-Отгонский) очаг (MN20) был открыт в 1936 году. Его исторические границы включают бассейн реки Буянт-гол и прилегающие горные хребты в юго-восточной части Завханского аймака. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Тэсийн-Шарагольский очаг (MN21) был открыт в 1965 году. Его исторические границы включают горные отроги Сангилена и другие хребты в юго-западной части Хубсугульского аймака (Цэцэрлэг, Цагаан-Уул, Арбулаг сомоны). На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT) и штаммы, отнесённые к алтайским (0.PE4a-2-1). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Булнайский (Тэлмэн-Соготынский, Согот-Булнайский) очаг (MN22) был открыт в 1919 году. Его исторические границы включают Тэймэн и Булнай сомоны Завханского аймака. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Тэрхинский очаг (MN23) был открыт в 1880 году. Его исторические границы включают южные склоны Тарбагатайского хребта. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). В 1966 году выделен штамм, устойчивый к стрептомицину. Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Хануйн-Гольский очаг (MN24) был открыт в 1894 году. Его исторические границы включают север Архангайского аймака. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Чулуут-Тамирский очаг (MN25) был открыт в середине прошлого столетия. Его исторические границы включают юго-запад Архангайского аймака. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Шара-Усынский очаг (MN26) был открыт в 1942 году. Его исторические границы включают северные регионы Южного Хангая. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Хурэмальский очаг (MN27) был открыт в 1928 году. Его исторические границы включают запад Баянхонгорского аймака. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Заг-Байдрагинский очаг (MN28) был открыт в 1953 году. Его исторические границы включают юго-запад Хангая (Баян-Хонгорский аймак). На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT) и штаммы, отнесённые к алтайским (0.PE4a-2-1). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Даланский очаг (MN29) был открыт в 1949 году. Его исторические границы включают отроги Даланского хребта в Баян-Хонгорском аймаке. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Тиунгольский очаг (MN30) был открыт в 1980 году. Его исторические границы включают бассейны рек Туин-гол и Улзиит-Гол. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Второстепенный – длиннохвостый суслик (*Urocitellus undulatus*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Таац-Онгийский очаг (MN31) был открыт в середине прошлого столетия. Его исторические границы включают северо-запад Убур-Хангайского аймака (большая часть расположена в верхней части долины реки Орхон). Некоторыми исследователями территория Хайрхандулан сомона выделяется в качестве самостоятельного Шар-Муруйского природного очага. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Баян-Ундерский очаг (MN33) был открыт в 1899 году. Его исторические границы включают северо-восток Убур-Хангайского, юго-запад Центрального и юго-восток Архангайского аймаков. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT) и штаммы, отнесённые к алтайским (0.PE4a-2-1). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Второстепенный – полёвка Брандта (*Lasiopodomys brandtii*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*. Второстепенный – *Neopsylla pleskei*.

Бага-Гедерын-Ульский (Бага-Газрын-Чулуутский) очаг (MN34) был открыт в середине прошлого столетия. Его исторические границы включают северную часть Северо-Гобийского аймака и юг Центрального аймака. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT) и штаммы, отнесённые к алтайским (0.PE4a-2-1). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Второстепенный – полёвка Брандта (*Lasiopodomys brandtii*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*. Второстепенный – *Neopsylla pleskei*.

Сэрвэн-Дзамар-Ульский очаг (MN35) был открыт в 1938 году. Его исторические границы включают северо-запад Центрального Аймака. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Налгар-Ульский очаг (MN36) был открыт в 1894 году. Его исторические границы включают запад Центрального аймака. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Богдо-Хан-Ульский очаг (MN37) был открыт в 1947 году. Его исторические границы включают отроги Богдо-Хан-Ульские горного узла центральной части Центрального аймака. На территории очага выделены штаммы ос-

новного подвида (3.ANT). В период с 2002 по 2010 год от полёвок Брандта (*Lasiopodomys brandtii*) выделялись штаммы, отнесённые к алтайским (0.PE4a-2-1). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Бага-Хэнтийский очаг (MN38) был открыт в середине прошлого столетия. Его исторические границы включают горы севернее Улан-Батора. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Мунгун-Морьтинский очаг (MN39) был открыт в 1952 году. Его исторические границы включают северо-восточное направление от Улан-Батора в Мунгунморьт сомоне. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Хурхинский (Хэрлэнский) очаг (MN40) был открыт в 1896 году. Его исторические границы включают юго-восток Хэнтея. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Зун-Хэнтийский (Идэрмег-Батноровский) очаг (MN41) был открыт в 1929 году. Его исторические границы включают северо-восток Хэнтея в междуречье Онона и Керулена. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Оцол-Дарханский очаг (MN42) был открыт в 1888 году. Его исторические границы включают стык Хентийского, Восточно-Гобийского и Северо-Гобийского аймаков. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Хойт-Хэрлэнский очаг (MN43) был открыт в 1886 году. Является частью трансграничного очага, включающего Хулун-Буирский (Китай) и Забайкальский степной (Россия) очаги. На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.ANT3). Основной носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Дариганский очаг (MN45) был открыт в 1899 году. Его исторические границы включают южную часть Субхаторского аймака. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель не определён. Чумной микроб выделялся от монгольского сурка (*Marmota sibirica*), даурского суслика (*Spermophilus dauricus*), полёвки Брандта

(*Lasiopodomys brandtii*) и даурской пищухи (*Ochotona dauurica*). Переносчик – *Rhadinopsylla dahurica, Oropsylla silantiewi, Ctenophyllus hirticrus, Neopsylla pleskei.*

Природные очаги песчаночного типа.

Южно-Гобийский (Ханхонгорский) очаг (MN16) был открыт в 1978 году. Его исторические границы включают пустынные местности севернее хребта Гурван-Сайхан. На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED). Основной носитель – большая песчанка (*Rhombomys opimus*). Основной переносчик – *Xenopsylla scrjabini*.

Тамцаг-Булагский очаг (MN44) был открыт в 1947 году. Его исторические границы включают Восточный аймак. На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель – монгольская песчанка (*Meriones unguiculatus*). Второстепенные – даурский суслик (*Spermophilus dauricus*), полёвка Брандта (*Lasiopodomys brandtii*). Основной переносчик – *Xenopsylla scrjabini, Nosopsyllus laeviceps*, *Neopsylla pleskei.*

Замын-Удский очаг (MN45) был открыт в 1953 году. Его исторические границы включают Восточно-Гобийский аймак (Эрдэнэ и Урген сомоны). Данный очаг является частью трансграничного очага, включающего Эрлянский очаг (Китай). На территории очага выделены штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель – монгольская песчанка (*Meriones unguiculatus*). Основной переносчик – *Xenopsylla scrjabini, Nosopsyllus laeviceps*, *Neopsylla pleskei.*

Природные очаги полёвочьего типа.

Сайлюгемский очаг (MN02) был открыт в 1953 году. Его исторические границы включают Баян-Ульгийский аймак (Уланхус, Цаганнур, Ноганнур сомоны) на южном макросклоне Сайлюгемского хребта. На территории очага выделены штаммы, отнесённые к алтайским (0.PE4a-2–1) и улегейским (0.PE5/2–2). Последний отличается медленным ростом на питательных средах. Основной носитель – монгольская пищуха (*Ochotona pallasi*). Второстепенный – серый сурок (*Marmota baibacina*). Основной переносчик - *Paradoxopsyllus scorodumovi.*

Бухен-Ульский очаг (MN05) был открыт в 1968 году. Его исторические границы включают центральную часть Баян-Ульгийского аймака (Сагсай сомон) по правобережью реки Сагсай. На территории очага выделены штаммы, отнесённые к улегейским (0.PE5/2–2). Подветвь 0.PE5/2–1 формируют штаммы, выделенные в 1974–1986 годах, а подветвь 0.PE5/2–2 – выделенные в 1972–1990 годах. Основной носитель – монгольская пищуха (*Ochotona pallasi*). Основной переносчик – *Paradoxopsyllus dashidorzhii.*

Гурван-Сайханский очаг (MN15) был открыт в 1971 году. Его исторические границы включают хребет Гичгений Нуруу. На территории очага выделе-

ны штаммы основного подвида (3.ANT) штаммы, отнесённые к улегейским (0.PE5/1). Основной носитель – монгольская пищуха (*Ochotona pallasi*). Второстепенный – монгольская песчанка (*Meriones unguiculatus*). Основной переносчик – *Paradoxopsyllus dashidorzhii*.

Ханхегшинский очаг (MN32) был открыт в середине прошлого столетия. Его исторические границы включают предгорья Ханхегшинского хребта в Юго-Восточном Хангае. На территории очага выделены штаммы, отнесённые к алтайским (0.PE4a-2-1) и улегейским (0.PE5/1). Редко выделяются штаммы основного подвида (3.ANT). Основной носитель – полёвка Брандта (*Lasiopodomys brandtii*). Второстепенный - монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Neopsylla pleskei*. Второстепенный – *Oropsylla silantiewi*.



Обзорная карта природных очагов Монголии (по Вержуцкий Д. Б., 2019). Обозначения Аймаков Монголии: BO – Баян-Ульгий; UV – Увс; HO – Ховд; GA – Говь-Алтай; DZ – Завхан; HU – Хувсгел; AR – Архангай; BH – Баянхонгор; BU – Булган; GS – Говь-Сумбэр; OH – Уверхангай; SG – Умнеговь; SE – Сэлэнгэ; CE – Туве; DG – Дундговь; HE – Хентий; EA – Дорнговь; SU – Сухэ-Батор

Краткие сведения о природных очагах Китая и Тибета

Природные очаги сусликового типа

Маньчжурский (Центрально-Маньчжурский, Сунгари-Ляохский, равнин Сонг-Ляо) очаг (2) был открыт в 1898 году. Его исторические границы включают провинции Хэйлуцзян, Цзилинь, Ляонин, северную часть провинции Хэбэй и частично восточную часть автономного района Внутренняя Монголия. Площадь очага – 120 000 км². На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.ANT3). Основной носитель – даурский суслик (*Spermophilus dauricus*). Второстепенные – даурская пищуха (*Ochotona dauurica*), монгольский тушканчик (*Dipus sagitta*), забайкальский цокор (*Myospalax aspalax*), барабинский хомячок (*Cricetulus barabensis*), хомячок Кэмпбелла (*Phodopus campbelli*), полёвка Брандта (*Lasiopodomys brandti*), полевая мышь (*Apodemus agrarius*), домовая мышь (*Mus musculus*), серая крыса (*Rattus norvegicus*), азиатский барсук (*Meles leucurus*), светлый хорь (*Mustella eversmanii*), ласка (*Mustella nivalis*). Основной переносчик – *Citellophilus tesquorum sungaris*. Второстепенные – *Pulex irritans, Xenopsylla cheopis, Frontopsylla luculenta, Neopsylla abagaitui.*

Ордосский (Гянсу-Нинся-Хуэйский, Ордосско-Шэньсийский, Лессового плато) очаг (15) был открыт в 1956 году. Его исторические границы включают лессовое плато в излучине реки Хуанхэ. Площадь очага – около 3000 км². На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED3). Основной носитель – алашанский суслик (*Spermophilus alashanicus*). Второстепенные – заяц-толай (*Lepus tolai*), даурская пищуха (*Ochotona dauurica*), корсак (*Vulpes corsac*). Основной переносчик – *Citellophilus tesquorum.*

Циньлиньский очаг (16) был открыт в начале прошлого столетия, а с середины не проявляет эпизоотической активности. Его исторические границы включали провинции Шэньси, Шаньси и северную часть Хэнани. Площадь очага – не менее 50 000 км². На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.ANT3). Основной носитель – даурский суслик (*Spermophilus dauricus*). Основной переносчик – *Citellophilus tesquorum.*

Природные очаги сурочьего типа

Хулун-Буирский (Хулун-Бырский, Баргинский) очаг (1) был открыт в 1863 году. Его исторические границы включают северо-восточную часть автономного района Внутренняя Монголия. Площадь очага – 35 200 км². Данный очаг является частью трансграничного очага, включающего Забайкальский степной (Россия) и Хойт-Хэрленский (Монголия) очаги. На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.ANT3). Основной

носитель – монгольский сурок (*Marmota sibirica*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi*.

Боро-Хоринский (Focus B4) очаг (6) был открыт в 1956 году. Его исторические границы включают Синьцзян-Уйгурский автономный район. Площадь очага – 5000 км². Данный очаг наряду с Богдо-Шаньским некоторыми исследователями рассматривается как часть единого Восточно-Тяньшаньского очага. На территории очага выделены штаммы основного подвида (0.ANT1 и 0.ANT2). Основные носители – серый сурок (*Marmota baibacina*), длиннохвостый суслик (*Spermophilus undulatus*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi, Citellophilus tesquorum*.

Ирен-Хабиргинский (Focus B3) очаг (7) был открыт в 1901 году. Его исторические границы включают Синьцзян-Уйгурский автономный район. Площадь очага – 15 000 км². На территории очага выделены штаммы основного подвида (0.ANT1). Основной носитель – серый сурок (*Marmota baibacina*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi, Callopsylla dolabris*.

Богдо-Шаньский (Focus B2) очаг (8) был открыт в середине прошлого столетия. Его исторические границы включают Богдо-Шаньский хребет. Площадь очага – 10 000 км². Данный очаг наряду с Боро-Хоринским некоторыми исследователями рассматривается как часть единого Восточно-Тяньшаньского очага. На территории очага выделены штаммы основного подвида (0.ANT1 и 0.ANT3). Основные носители – серый сурок (*Marmota baibacina*), длиннохвостый суслик (*Spermophilus undulatus*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi, Citellophilus tesquorum*.

Тянь-Шаньский (Focus B1) очаг (9) был открыт в середине прошлого столетия. Его исторические границы включают Синьцзян-Уйгурский автономный район. Площадь очага – 17 400 км². На территории очага выделены штаммы основного подвида (0.ANT3 и 2.MED2). Основной носитель – серый сурок (*Marmota baibacina*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi.*

Памирский (Focus A) очаг (10) был открыт в 1956 году. Его исторические границы включают Кызылсу-Киргизский автономный округ (уезды Акто и Улугчат). Площадь очага – 18 400 км². На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED2). Основной носитель – красный сурок (*Marmota caudata*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi, Rhadinopsylla vi ventricosa.*

Карангутагский (Западно-Куньлуньский, Focus K-1) очаг (11) был открыт в конце XIX века. Его исторические границы включают Карангутагский хребет. Площадь очага – 10 000 км². На территории очага выделены штаммы основного подвида (1.IN2, 2.ANT2 и 2.MED2). Основной носитель – гима-

лайский сурок (*Marmota himalayana*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi.*

Алтынтагский (Восточно-Куньлуньский, Focus K-2) очаг (12) был открыт в 1911 году. Его исторические границы включают хребет Алтынтаг. Площадь очага – 102 600 км². На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED2). Основной носитель – гималайский сурок (*Marmota himalayana*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi.* Второстепенный – *Rhadinopsylla vi ventricosa.*

Няньшаньский (Focus D) очаг (14) был открыт в 1956 году. Его исторические границы включают территорию, ограниченную с северо-востока хребтом Циляньшань, с юго-запада Цайдамской котловиной. Площадь очага – 10 000 км². На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.ANT2). Основной носитель – гималайский сурок (*Marmota himalayana*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi.*

Цинхай-Тибетский (Focus C) очаг (17) был открыт в 1956 году. Его исторические границы включают значительную часть Сино-Тибетских гор, центр которых, хребет Тангла, является местом наибольшего числа вспышек. Площадь очага – 1 млн км². Вероятно, состоит из большого числа самостоятельных очагов[1]. На территории очага выделены штаммы, отнесённые к тибетским (0.PE7), а также штаммы основного подвида (0.ANT2, 0.ANT3, 1.IN1, 1.IN2, 2.MED2, 2.MED3). В 2009 году на территории очага был зарегистрирован первый случай заражения собаки первичной лёгочной формой чумы. Основной носитель – гималайский сурок (*Marmota himalayana*). Второстепенные – черногубая пищуха (*Ochotona curzoniae*), домовая мышь (*Mus musculus*), светлый хорь (*Mustella eversmanni*), домашняя собака (*Canis familiaris*), тибетская лисица (*Vulpes ferrilata*), барсук (*Meles meles*), домашняя кошка (*Felis catus*), рысь (*Lynx lynx*), домашняя овца (*Ovis aries*), тибетский дзерен (*Procarpa picticauda*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi, Callopsylla dolabris.* Второстепенные – *Rhadinopsylla li ventricosa, Pullex irritans, Frontopsylla wagneri,* а также иксодовые клещи *Ixodes crenulatus, Rhipicephalus sanguineus, Dermacentor spp.* и вшей *Linognathoides palearcticus.*

Аркатаг-Бурхан-Буддайский очаг (13) был открыт в 1954 году. Его исторические границы включают провинцию Цинхай. Площадь очага – 40 000 км². Большинством исследователей рассматривается как северная часть Цинхай-Тибетского очага. На территории очага выделены штаммы основного подвида (0.ANT1, 1.IN1 и 3.ANT1; с 1996 года – 1.IN2). Основной носитель –

[1] Данная мысль подтверждается тем фактом, что ещё до недавнего времени Карангутагский (11) и Алтынтагский (12) очаги включались в состав Цинхай-Тибетского очага.

гималайский сурок (*Marmota himalayana*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi, Callopsylla dolabris.*

Гималайский (Focus G) очаг (18) был открыт в середине прошлого столетия. Его исторические границы включают большую часть Гималайских гор с прилегающими хребтами. Площадь очага – 250 000 км². Вероятно, состоит из нескольких самостоятельных очагов. На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.ANT1). Основной носитель – гималайский сурок (*Marmota himalayana*). Основной переносчик – *Oropsylla silantiewi, Callopsylla dolabris.*

Природные очаги полёвочьего типа

Ксилингольский (Ксилингольский луговой, Сэлджигольский, Прихинганский, Focus J) очаг (3) был открыт в 1970 году. Его исторические границы включают возвышенности северо-восточной части автономного района Внутренняя Монголия. Площадь очага – 66 400 км². На территории очага выделены штаммы биовара microtus (xilingolensis и qinghaiensis). Основной носитель – полёвка Брандта (*Lasiopodomys brandti*). Второстепенные – даурский суслик (*Spermophilus dauricus*), монгольский сурок (*Marmota sibirica*), барабинский хомячок (*Cricetulus barabensis*), хомячок Кэмпбелла (*Phodopus campbelli*), домовая мышь (*Mus musculus*), серая крыса (*Rattus norvegicus*), каменка-плясунья (*Oenanthe isabellina*). Основной переносчик – *Amphipsylla primaris*. Второстепенные – *Neopsyllus laeviceps, Leptopsylla pavlovskii.*

Циньхай-Сычуанский (Хингай-Тибетского плато, Focus I) очаг (19) был открыт в 1997 году. Его исторические границы включают юго-восточную часть провинции Цинхай и северо-западную часть провинции Сычуань. Площадь очага – 20 000 км². На территории очага выделены штаммы, отнесённые к алтайским (0.PE4a), и штаммы биовара microtus (xilingolensis и qinghaiensis). Основной носитель – цинхайская полёвка (*Microtus fuscus*). Второстепенные – домашняя собака (*Canis familiaris*), домашняя кошка (*Felis catus*), домашняя овца (*Ovis aries*). Основной переносчик – *Callopsylla sparsilis, Amphipsylla tutua tutua, Rhadinopsylla dahurica vicina.*

Природные очаги песчаночного типа

Эрлянский (Эрляньский, Внутримонгольское плато) очаг (4) был открыт в 1954 году. Его исторические границы включают центральную часть автономного района Внутренняя Монголия. Площадь очага – 134 800 км². Данный очаг является частью трансграничного очага, включающего Замын-Удский очаг (Монголия). На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED3). Основной носитель – монгольская песчанка (*Meriones unguiculatus*). Второстепенные – заяц-толай (*Lepus tolai*), даурская пищуха (*Ochotona dauurica*), монгольский емуранчик (*Stulodipus erythrogenys*), крас-

нощёкий суслик (*Spermophilus dauricus*), пятилапый карликовый тушканчик (*Cardiocranius paradoxus*), хомячок Роборовского (*Rhodopus roborovskii*). Основной переносчик – *Nosopsyllus laeviceps, Xenopsylla conformis, Neopsylla pleskei*. Второстепенные – *Neopsylla galea, Coptopsylla lamellifer*, а также клещи иксодовые *Haemophisalis verticalis* и гамазовые *Eulaelaps cricetuli*.

Джунгарский песчаный (Focus H) очаг (5) был открыт в 2005 году. Его исторические границы включают небольшую часть Синьцзян-Уйгурского автономного района. Площадь очага – 160 000 км^2. На территории очага выделены штаммы основного подвида (2.MED1). Основной носитель – большая песчанка (*Rhombomys opimus*). Основной переносчик – *Xenopsylla skrjabini.*

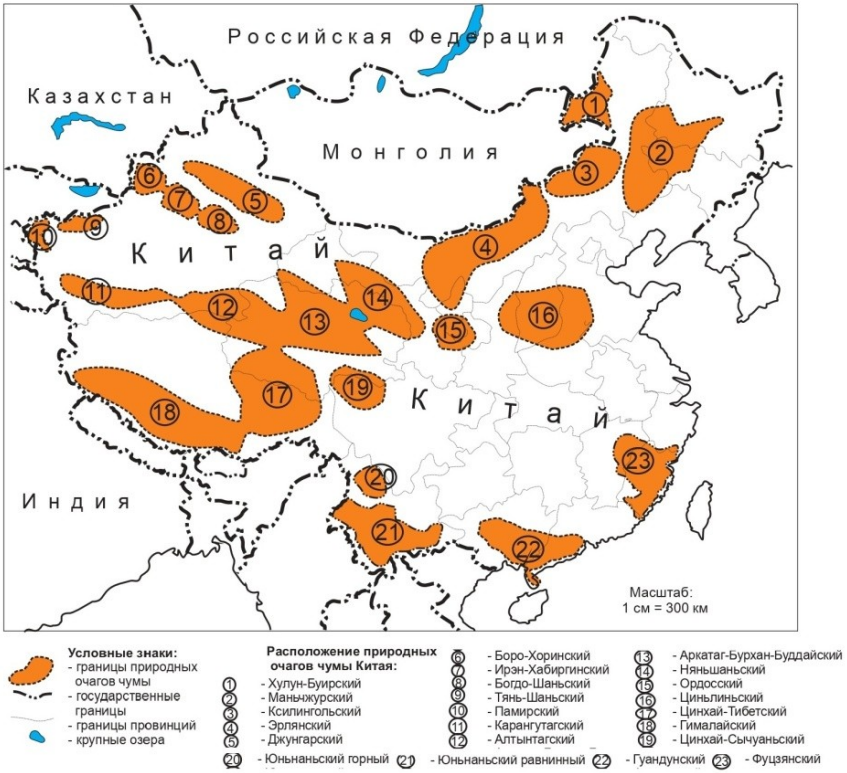
Оставшиеся природные очаги (20–23) многими исследователями объединены в один Юньнань-Гуандунско-Фуцзянский очаг**.**

Юньнаньский горный (Focus E) очаг (20) был открыт в 1974 году. Его исторические границы включают центральную часть Юньнаньского нагорья. Площадь очага – 700 км^2. На территории очага выделены штаммы основного подвида (1.IN3 и 1.ORI3). Основной носитель – мышь *Apodemus chevrieri*, полёвка *Eutenomys miletus*. Основной переносчик – *Neopsylla specialis specialis, Ctenophthalmus quadratus.*

Юньнаньский равнинный (Focus L) очаг (21) был открыт в 1956 году. Его исторические границы включают южную часть провинции Юньнань. Площадь очага – 200 000 км^2. На территории очага выделены штаммы основного подвида (1.ORI2), которые подразделяются на сублинию 1 (1.ORI2.2.1), появившуюся во время эпидемического цикла 1952–1956 годов, и сублинию 2 (1.ORI2.2.3.1, 1.ORI2.2.3.2, 1.ORI2.2.3.3, 1.ORI2.2.3.4), появившуюся во время эпидемического цикла 1982–2006 годов, после более чем 30-летнего затишья. Основной носитель – азиатская серая крыса (*Rattus tanezumi*). Основной переносчик – *Xenopsylla cheopis.*

Гуандунский (Focus L) очаг (22) был открыт в 1894 году. Его исторические границы включают южную часть провинции Гуандун. Площадь очага – 100 000 км^2. На территории очага выделены штаммы основного подвида (1.ORI2). Основной носитель – азиатская серая крыса (*Rattus tanezumi*). Основной переносчик – *Xenopsylla cheopis.*

Фуцзянский (Focus L) очаг (23) был открыт в 1894 году. Его исторические границы включают южную часть провинции Фуцзян. Площадь очага – 100 000 км^2. На территории очага выделены штаммы основного подвида (1.ORI2). Основной носитель – азиатская серая крыса (*Rattus tanezumi*). Основной переносчик – *Xenopsylla cheopis.*



Обзорная карта природных очагов Китая и Тибета
(по Вержуцкий Д. Б., 2022)

Краткие сведения о природных очагах других стран мира

Наиболее эндемичным по чуме регионом планеты является **остров Мадагаскар**, на который чумной микроб был занесён во время третьей пандемии из Индии. Первая вспышка заболевания была официально зарегистрирована в 1898 году в портовом городе Томатава, а последняя – в августе 2021 года в округах Аривунимаму и Амбалавау. Исторические границы природных очагов включают территории предгорий, гор и высокогорий Центрального плато. Вместе с тем принято считать, что, «слившись» с антропургическими очагами, они образовали единый комплексный природно-антропургический очаг, занимающий территорию центральной, северной и южной частей Центрального плато, который характеризуется постоянной эпидемической активностью с зонами высокой активности в провинциях Махадзанга, Фианаранцуа, Туамасина и Антананариву, включая одноимённую столицу. При этом для территорий с постоянной эпидемической активностью характерна высокая плотность населения (более 100 человек на 1 км^2). На территории комплексного очага выделены штаммы основного подвида (1.ORI3), представляющие собой наиболее молодую ветвь эволюции возбудителя. Мадагаскарские штаммы распадаются на кластер 1.ORI.3.k и производный от него 1.ORI.3.d. При этом первый существовал уже на момент выделения вакцинного штамма *Y. pestis* EV76, то есть к 1926 году, и распространён повсеместно, тогда как второй, вероятнее всего, сформировался только в 1933–1939 годах и ограничен небольшой территорией высокогорья провинции Фианаранцуа.

В 1995 году от 16-летнего юноши с симптомами бубонной чумы в городе Амбалавао (провинция Фианаранцуа) был выделен штамм *Y. pestis* 17/95, имеющий резистентность к стрептомицину, ампициллину, канамицину, спектиномицину, сульфаниламиду, тетрациклину, миноциклину и хлорамфениколу (чувствителен к ко-тримоксазолу). В последующие годы также выделялись штаммы, резистентные к стрептомицину (1996, 2013) и доксициклину (1998). Основной носитель – чёрная крыса (*Rattus rattus*), однако имеется мнение, что природная очаговость поддерживается подвидами *Rattus rattus rattus* (прибрежные леса) и *Ruttus rattus alexandinus* (высокое плоскогорье). Основным носителем в провинции Махадзанга вероятно является серая крыса (*Rattus norvegicus*). В округе Амбоситра (восточное побережье) чумной микроб также выделяется от черноголового тернека (*Hemicentetes nigriceps*). Основной переносчик – *Xenopsylla cheopis* (в городах), *Synopsyllus fonquerniei* (в сельской местности). Второстепенные – *Synopsyllus estradei, Dinopsyllus brachypecten*.

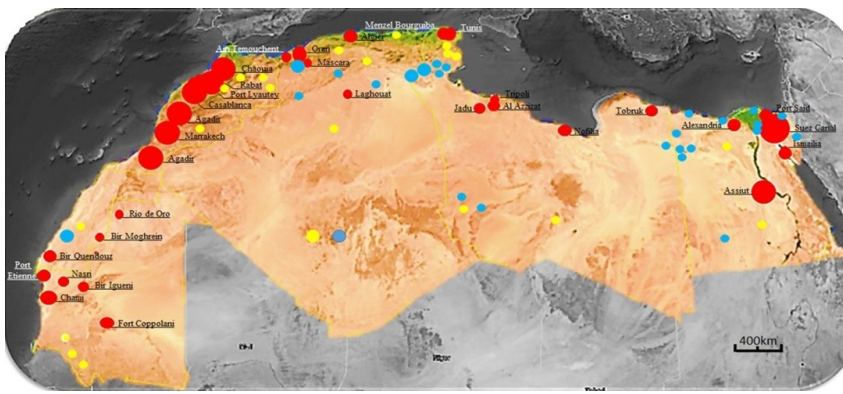
Африканский континент почти полностью лежит в zona pestica. В северной части, в пределах пустыни Сахара, ещё со времен первой пандемии чумы природные очаги установились в так называемом арабском Магрибе, в основном на территории Марокко, Алжира и Ливии. Отличительной особенностью этих очагов является их расположение в прибрежной зоне на расстоянии менее 3 км от побережья Средиземного моря, а также в непосредственной близости от соленых озёр, где чумной микроб обнаруживается в виде L-форм. Высказано предположение о сохранении возбудителя в почве и вовлечении её в эпизоотические процессы при второстепенной роли переносчиков (т. е. восприимчивые животные заражаются непосредственно из почвы). Долгое время считалось, что в **Алжире** нет природных очагов, пока в 2003 году (через 50 лет после последнего завозного случая) в районе Оран не произошла крупная вспышка, вызванная, по данным молекулярно-генетического анализа, местным штаммом основного подвида (1.ORI), занесённым из Индии во время третьей пандемии чумы. Последняя вспышка произошла в 2008 году в лагере бедуинов в районе Тхат-эль-Маа. Обе вспышки вызваны штаммами, занесённым из Индии во время третьей пандемии. Такое же происхождение имеют



Обзорная карта очагов острова Мадагаскар (по В. В. Кутырев, 2011)

штаммы (1.ORI2iii), выделяющиеся в очагах **Марокко**, тогда как в ***Ливии*** выделяются штаммы геноварианта 1.ANT, занесённые во время первой пандемии, а последняя вспышка произошла в 2009 году в районе города Тобрук. Носители – африканская песчанка (*Meriones shawi*), дневная песчанка (*Psammomys obesus*), карликовая песчанка (*Gerbillus gerbillus*), египетская песчанка (*Gerbillus Pyramidum*), белуджистанская песчанка (*Gerbillus nanus*), египетский тушканчик (*Jaculus jaculus*), серая крыса (*Rattus norvegicus*; север Марокко и портовые города), чёрная крыса (*Rattus rattus rattus* на севере Марокко и *Rattus rattus alexandrinus* на юге Марокко), домовая мышь (*Mus musculus*), алжирская мышь (*Mus spretus*), европейская мышь (*Apodemus sylvaticus*), обыкновенная белозубка (*Crocidura russula*), краснохвостая песчанка (*Meriones libycus*). Переносчики – *Xenopsylla cheopis*, *Synosternus cleopatrae, Xenopsylla ramesis* (в основном в Алжире), *Leptopsylla segnis, Nosopsyllus fasciatus, Xenopsylla taractes, Pulex irritans*.

В Северо-Западной Африке природные очаги располагаются на территории исторической области **Рио-де-Оро** и **Мавритании**, что подтверждается спонтанными эпизоотиями на грызунах и заболеваемостью среди верблюдов. Как и в случае Северной Африки, очаги располагаются в прибрежной зоне, где чумной микроб обнаруживается в виде L-форм. Носители – карликовая песчанка (*Gerbillus gerbillus*), египетская песчанка (*Gerbillus Pyramidum*), белуджистанская песчанка (*Gerbillus nanus*). Переносчики – *Xenopsylla ramesis, Xenopsylla nubica, Synosternüs cleopatrae, Xenopsylla cheopis* (в прибрежных городах).



Обзорная карта природных очагов Северной и Северо-Западной Африки (по M. A. Malek, 2017): зоны солёной воды обозначены синим, пресной – жёлтым, зоны эпизоотий – красным

В Западной Африке природные очаги расположены в **Сенегале**, на территорию которого чумной микроб был занесён в апреле 1914 года на корабле, прибывшем из города Касабланка (Марокко), а также на территории **Ганы** и **Нигерии**, куда он проник из Сенегала. Выделяются штаммы основного подвида (1.ORI2iii). Носители – натальская мышь (*Mastomys natalensis*), травяная мышь (*Arvicanthis niloticus*), гамбийская крыса (*Cricetomys gambianus*), пёстрая травяная мышь (*Lemniscomys griselda*). Редко в эпизоотии вовлекаются полосатая земляная белка (Xerus erythropus) и белозубка африканская гигантская (*Crocidura olivieri*). Переносчики – *Xenopsylla cheopis, Xenopsylla astia, Xenopsylla brasiliensis*.

В Центральную Африку чумной микроб попал двумя путями – во время первой пандемии из Египта и во время третьей – из Южной Африки. Пересечением этих путей стала **Замбия**, в очагах на территории которой выделяют штаммы основного подвида как геноварианта 1.ANT, так и геновариантов 1.ORI2iv и 1.ORI2vii. Помимо Замбии энзоотичная зона включает Заир, Уганду, Кению, Танзанию и Малавию, распространившись на 2200 км с юга на север и на 1000 км с востока на запад. При этом наибольший очаг расположен в **Уганде**, на северо-западе страны, в так называемом регионе Западного Нила, где на ряду с «мышиными» очагами присутствуют «крысиные», возникшие во время строительства Угандской железной дороги в 1896–1908 годах. Вполне вероятно, что тогда же произошёл завоз штаммов геноварианта 1.ORI2 (которые затем проникли в Замбию), которые, однако, не смогли укорениться, поэтому в настоящее время выделяются только штаммы геноварианта 1.ANT. Носители – натальская мышь (*Mastomys natalensis*), чёрная крыса (*Rattus rattus*). Переносчики – *Xenopsylla cheopis, Xenopsylla brasiliensis*. В **Кении** природные очаги приурочены к саваннам. Носителями здесь выступают болотная крыса (*Otomys angoniensis*), травяная мышь (*Arvicanthis abyssinicus*), полосатая мышь (*Rhabdomys pumilio*), ручьевая крыса (*Pelomys fallax*), пёстрая мышь (*Lemniscomys stratus*), песчанка (*Tatera robusta*). Переносчики – *Dinopsyllus lypusus, Xenopsylla brasiliensis, Xenopsylla cheopis*. В **Заире** природные очаги располагаются на границе с Угандой около озёр Альберт и Эдуард. Похожая ситуация в **Танзании**, где очаги расположены у озера Виктория, а также на склонах гор Килиманджаро и Паре. Носителями тут являются многососковая крыса (*Mastomys natalensis*),травяная мышь (*Arvicanthis abyssinicus*), хомяковидная крыса (*Cricetomys gambianus*), кустарниковая крыса (*Grammomys dolichurus*), косматая крыса (*Grammomus dryas*). Переносчики – *Dinopsyllus lypusus, Xenopsylla brasiliensis, Xenopsylla cheopis*.

В Южную Африку чумной микроб был занесён в 1900 году, когда из-за второй англо-бурской войны в город Кейптаун из южноамериканских портов пришлось импортировать большого количество корма. Оттуда

чума распространилась в порты южного побережья и далее вглубь континента, закрепившись между бассейнами рек Конго и Замбези, где обнаруживаются штаммы основного подвида (1.ORI2iv и 1.ORI2vii), хотя их эпизоотическая активность минимальна. Общая площадь энзоотичной зоны – 3,6–4 млн км². Сравнительно большую активность проявляют очаги в пустыне Калахари, районах южнее реки реки Лимпопо и междуречье рек Кванза и Оранжевая. В **ЮАР** очаги чумы расположены на территории Капской провинции, Оранжевой республики и Трансвааля. На территории **Анголы** расположено четыре очага чумы: на севере (не активен с 1934 года), округ Бенгвела (не активен с 1950 года), трансграничный, расположившийся от реки Кубанго до Овамболенде (Намибия), и на юге (к востоку от реки Кубанго). Считается, что именно здесь был впервые обнаружен ангольский подвид (0.PE3), отличающийся отсутствием капсулообразования (при наличии плазмиды pFra). Помимо обозначенного трансграничного очага, в **Намибии** расположились очаги на плато Дамараленд и на правом берегу нижнего течения реки Оранжевой. В **Замбии** очаги расположены в западной и восточной частях страны. Интересно, что хотя чума известна в этой стране с 1937 года, к настоящему времени не выделено ни одной культуры возбудителя (все диагнозы поставлены с помощью ПЦР). На севере **Ботсваны** известны четыре мезоочага: два – в районе пересохшего озера Нгоми и западнее низовий Окаванго (Нгамиленд), два – между протоком Ботлетле, соединяющим озеро Макарикари с бассейном Окаванго и восточным и северовосточным краями дельты Окаванго. Носители – песчанка Шинца (*Tatera schinzi*), песчанка намаква (*Desmodillus auricularis*), многососковая мышь (*Mastomys coucha*), натальская мышь (*Mastomys natalensis*), полосатая мышь (*Rhabdomys pumilio*), болотная крыса (*Otomys irroratus*). Переносчики – *Xenopsylla piriei, Xenopsylla philoxera, Xenopsylla brasiliensis, Dinopsyllus ellobius.*

На Ближнем востоке чума впервые появилась в **Палестине** в конце Первой мировой войны, после чего не регистрировалась с 1925 по 1940 годы. Только в 1941 и 1947 годах она вновь появилась в городе Хайфе, что, вероятно, явилось следствием заноса из зоны Суэцкого канала. В дальнейшем эпизоотическая активность не регистрировалась, из чего можно заключить, что чумной микроб не закрепился на данной территории, чего не скажешь о **Саудовской Аравии** и **Йемене**, на территории которых расположился трансграничный *Саудовско-Йеменский пустынный (нагорно-равнинный) очаг*. Его историческая территория включает юго-западную часть Аравийского полуострова (районы Эль-Асир и Ховран). На территории очага выделяются штаммы основного подвида (2.MED1). Носители – королевская песчанка (*Meriones rex*), чернохвостая песчанка (*Gerbillus famulus*), алжирская песчанка (*Gerbillus garamantis*), домашняя мышь (*Mus*

musculus), чёрная крыса (*Rattus rattus*). Данные о переносчиках отсутствуют (вероятно, *Xenopsylla cheopis, Xenopsylla piriei*).

На территории **Сирии**, **Ирана** и, вероятно, **Кувейта** располагается *Сирийско-Месопотамский (плоскогорно-равнинный) очаг*, историческая территория которого распространяется на равнины Тигра и Ефрата. На территории очага выделяются штаммы основного подвида (2.MED1). Носители – индийская песчанка (*Tatera indica*), ливийская песчанка (*Tatera lybicus*). Переносчики – *Pulex irritans*.

На территории **Ирана** располагается два трансграничных очага. *Ирано-Афганский низкогорный (пустынный) очаг* включает восточную часть Ирана и **Афганистан**. На его территории выделяются штаммы основного подвида (2.MED1). Основные носители – большая песчанка (*Rhombomys opimas*), ливийская песчанка (*Tatera lybicus*), персидская песчанка (*Meriones persicus*). Второстепенные – песчанка Виноградова (*Meriones vinogradovi*), переднеазиатская песчанка (*Meriones tristrami*). Переносчики – *Xenopsylla buxtoni, Stenoponia tripectinata*. *Курдо-Иранский (Курдо-Каспийский) горно-степной очаг* включает западную часть Иранского нагорья, юго-восточную часть **Турции** и северо-восточные районы **Ирака**. Вполне вероятно, что этот очаг связан с закавказскими очагами стран СНГ. На его территории выделяются штаммы основного подвида (2.MED1). Основные носители – персидская песчанка (*Meriones persicus*), казвинская полёвка (*Microtus qazvinensis*). Носители – ливийская песчанка (*Tatera lybicus*), песчанка Виноградова (*Meriones vinogradovi*), переднеазиатская песчанка (*Meriones blackleri*), индийская песчанка (*Tatera indica*). Переносчики – *Xenopsylla buxtoni, Stenoponia tripectinata insperata*.

На территории Южной Азии циркулируют штаммы, занесённые во время первой и третьей пандемий. В **Индии** на юге, на Деканском плоскогорье, расположено три очага (штаты Андхара-Прадеш, Майсур, Мадрас, Махараштра), один очаг в центральной части страны (штат Мадхья-Прадеш), и ещё три очага не севере, у подножья Гималаев (штаты Пенджаб, Уттар-Прадеш, Бихар). На территории очагов выделяются штаммы основного подвида (1.ORI1, 1.ORI2 и 1.ANT1). Причём геновариант 1.ANT1 встречается на севере страны. Носители в центральной части и на севере – индийская песчанка (*Tatera indica*), мягкошёрстная крыса (*Millardia meltada*); «вторые носители» – серая крыса (*Rattus norvegicus*), чёрная крыса (*Rattus rattus*). Отличительной особенностью этих очагов является двойная цепочка носителей, то есть заражение человека осуществляется после последовательного заражения носителей и крыс. Носители в южной части – бенгальская бандикота (*Bandicota bengalensis*), индийская бандикота (*Bandicota indica*). Второстепенные – индийская песчанка (*Tatera indica*), серая крыса (*Rattus*

norvegicus), чёрная крыса (*Rattus rattus*). Переносчики – *Xenopsylla cheopis, Xenopsylla astia, Xenopsylla brasiliensis, Nosopsyllus fasciatus*.

В Европе, за исключением описанных ранее, располагающихся на территории СНГ, природные очаги отсутствуют, поскольку по прошествии трёх пандемий закрепления возбудителя не произошло.

На территории **Непала** заболевание впервые зарегистрировано в 1967–1968 и 1971 годах в провинции Сетли, однако очаг к настоящему времени не изучен. Выделенный в 1967 году во время вспышки лёгочной чумы штамм *Y. pestis* Nepal516 оказался непигментирующим и относился основному подвиду (1.ANT1). Основным носителем, вероятно, является гималайский сурок (*Marmota himalayana*).

В страны Юго-Восточной Азии чумной микроб был завезён во время третьей пандемии из Китая, поэтому выделяются в основном штаммы геноварианта 1.ORI2ii. Будучи завезённой через порты в городские районы, чума закрепилась в местной популяции грызунов, образовав очаги. В **Таиланде** они расположены в южной и северной частях страны. Основной носитель – гигантская белозубка (*Suncus murinus*). В **Индонезии** очаг располагается в центральной части острова Ява. Носителями здесь являются дикоживущие малая крыса (*Rattus exulan*), серебристобрюхая крыса (*Rattus argentiventer*) и малазийская домашняя крыса (*Rattus rattus diardiine*).

На территории **Мьянмы** очаги расположены в центральных и северных районах страны, где носителями являются серая крыса (*Rattus norvegicus*), чёрная крыса (*Rattus rattus*), малая крыса (*Rattus exulans*), гималайская крыса (*Rattus nitidus*), бирманская бандикота (*Bandicota savilei*). Эти же носители обитают в очагах южной части **Вьетнама,** в котором с 2005 года возбудитель не выделяется[1]. Капсульный антиген выделялся от краснощёкой белки (*Dremomys rufigenis*), белки Бербмора (*Menetes berdmorei*), краснобрюхой белки (*Callosciurus erythraeus*), гималайской полосатой белки (*Tamiops macclellandi*), крысы Бовера (*Berylmys bowersii*), крысы Эдвардса (*Leopoldamys edwardsi*), плоскошёрстной мыши (*Mus platythrix*) и индийской бандикоты (*Bandicota indica*). Переносчик (вероятно, единственный) – *Xenopsylla cheopis.* В очагах обеих стран выделяются штаммы геноварианта 1.ORI2ix.

В Южную Америку чумной микроб попал в 1899 году, когда в уругвайский город Монтевидео из города Роттердама (Нидерланды) прибыл корабль с индийским рисом (первая вспышка заболевания произошла уже в 1901 году). Затем груз на пароходе отправился в аргентинские порты Буэнос-Айрес и Ла-Плата, а оттуда в город Асунсьон (Парагвай). Так в Латин-

[1] По этой причине некоторыми исследователями оспаривается факт существования во Вьетнаме именно природных очагов.

ской Америке появились штаммы геноварианта 1.ORI2viii. При этом в настоящее время, помимо данного геноварианта, выделяются также штаммы геноварианта 1.ORI2v. В **Аргентине** и **Перу** очаги расположены в центральной и северной частях страны, в **Боливии** – восточнее центрального массива Центральных Анд, в **Бразилии** – в северо-восточных частях страны, на **Эквадоре** – в центральной, южной и западной частях, а в **Венесуэле** – в северной части. Основные носители – бразильская свинка (*Cavia aperea*), южная горная свинка (*Microcavia australis*), желтозубая морская свинка (*Galea musteloides*), серо-жёлтый хомячок (*Phyllotis griseoflavus*), горная вискаша (*Lagidium viscaccia*), домовый опоссум (*Monodelphis domestica*), рисовые хомяки *Oryzomys andinas* (в Перу) и *Oryzomys subflavus* (в Бразилии). Второстепенные – мелкие хомяки родов *Akodon* (*Akodon mollis* в Эквадоре), *Holochilus, Eligmodontia, Phyllotis*, а также бразильский кролик (*Sylvilagus brasiliensis*) и заяц-русак (*Lepus europaeus*). Переносчики – *Polygenis platensis cisandinus, Polygenis byturus, Panallius galeanus, Delostichus talis, Hectopsylla eskeyi* (в Перу).

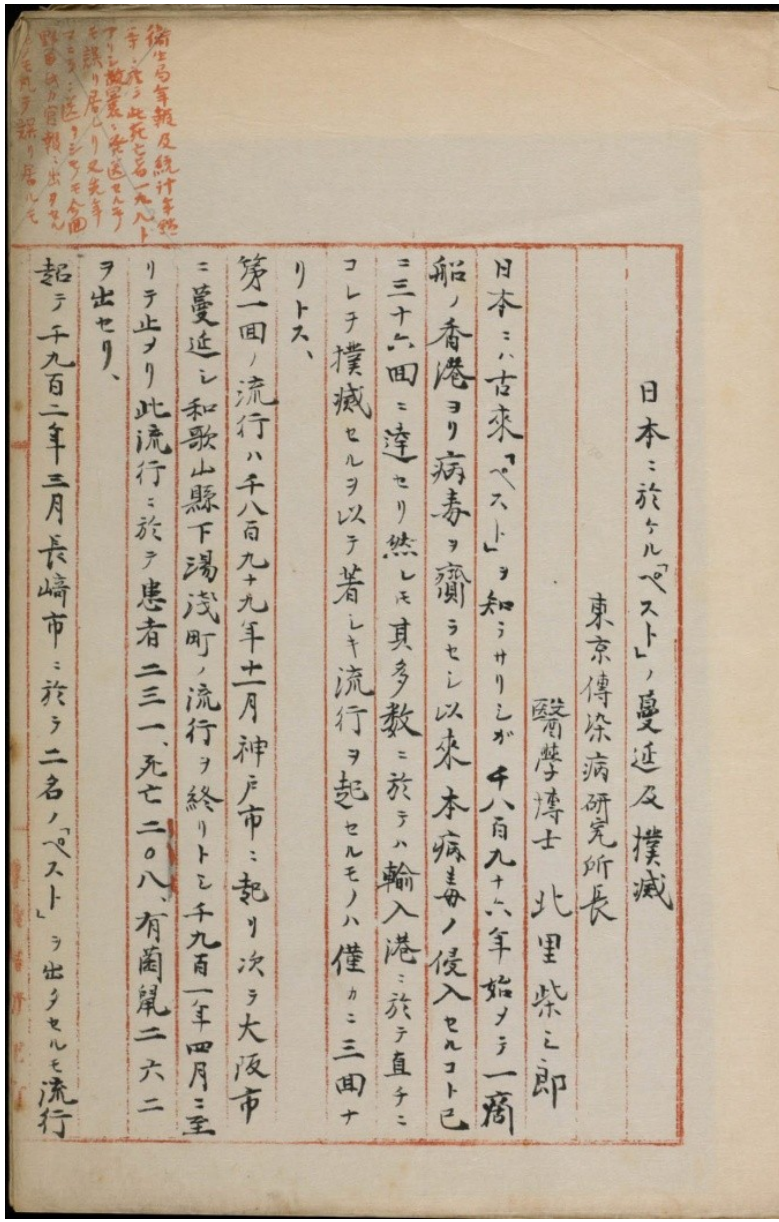
В Северную Америку чумной микроб был занесён из города Гонконга (Китай) на корабле, что в 1899 году прибыл в город Гонолулу (Гавайи), а оттуда в порт Сан-Франциско (США). На **Гавайях** эпидемия бушевала около десяти лет, распространившись на все острова. Эпизоотии продолжались вплоть до 1949 года. Большинство исследователей сходятся во мнении, что из-за большого количества осадков и тропического пассатного климата природный очаг здесь так и не сформировался, чего не скажешь о **США**, где природные очаги сформировались в 15 штатах (западнее 98° западной долготы). В них выделяют штаммы основного подвида (1.ORI1). В тихоокеанской зоне, полупустынях и пустынях Среднего Запада основными носителями являются суслик Ричардсона (*Spermophilus richardsoni*), колумбийский суслик (*Spermophilus columbianus*), уинтский суслик (*Spermophilus armatus*), суслик Белдинга (*Spermophilus beldingi*), калифорнийский суслик (*Otospermophilus beecheyi*). В сухих степях Среднего Запада, полупустынях и пустынях центральных и юго-восточных частей Межгорного плато основными носителями являются луговые собачки рода *Cynomys* и хомяки рода *Neotoma*. В Калифорнийском очаге эту роль играет калифорнийская полёвка (*Microtus californicus*) и хомячки рода *Peromyscus*. Второстепенными носителями являются малый бурундук (*Tamias minimus*), колорадский бурундук (*Tamias quadrivittatus*), бурундук Таунсенда (*Tamias townsendi*), северная летяга (*Glaucomys sabrinus*), желтобрюхий сурок (*Marmota flaviventris*), калифорнийский заяц (*Lepus californicus*), а также домашняя кошка (*Felis catus*) и собака (*Canis familiaris*). Переносчики – *Diamanus montanus, Oropsylla idahoensis, Thrassis bacchi, Thrassis pandorae, Hoplopsyllus anomalus, Opisocrostis hirsutus, Orchopeas sexdentatus, Malaraeus telchinus, Hystrichopsylla linsdalei, Megabothris clantoni*.

В **Канаду** занос возбудителя ожидался в 1938 году, поэтому в западной части страны было проведено обследование диких грызунов, однако чумной микроб не был обнаружен. Лишь на следующий год была зафиксирована эпизоотия в степной зоне юго-восточной части провинции Альберта, а к 1946 году энзоотичные зоны распространись до провинции Саскачеван. Носители – суслик Ричардсона (*Citellus richardsoni*) и желтобрюхий сурок (*Marmota flaviventris*).

В **Мексике** очаги расположены в пустынной части страны (штат Коахвила), где носителями являются мексиканские луговые собачки (*Cynomys mexicanas*).

Япония, как пишет Китасато Сибасабуро, «не знала о чуме до тех пор, пока в 1896 году болезнь не была впервые привезена на одном из торговых кораблей». Речь идёт о завозе на остров Формоза (ныне – Тайвань), который по результатам Японо-китайской войны (1894–1995) отошёл японцам (дальше острова инфекция не распространилась). Затем в 1899 году чумной микроб был завезён в город Кобе (сообщается, что источником инфекции был привезённый хлопок, от которого заразились портовые крысы), с которого началась первая в истории Японии эпидемия[1]. Второй завоз инфекции был в 1902 году (город Иокогама), третий – в 1905 году (город Токио). В дальнейшем вспышки заболевания регистрировались в портовых городах префектур Киго, Осака, Миэ и Канагава. С 1929 года случаев инфицирования не зарегистрировано.

[1] Ранее много раз было показано, как чумной микроб повлиял на культуру Японии (вспомните святилище чумы, ёкая Амабиэ и т. д.), что вступает в противоречие со словами Китасато Сибасабуро. Дело в том, что традиционно инфекции из японских легенд ассоциируют с чумой, однако можно видеть, что, например, «водное» происхождение Амабиэ больше указывает на холеру (более того, «культ» этого ёкая распространился в итоге и на неё). Все выделенные на сегодняшний день на японских островах штаммы чумного микроба относятся к биовару orientalis, поэтому нет достоверных доказательств присутствия чумного микроба до третьей пандемии, однако некоторые специалисты, основываясь на данных исторических хроник, не исключают возможности её более раннего заноса, например, со стороны Корейского полуострова в результате торговых отношений.



日本ニ於ケル「ペスト」ノ蔓延及撲滅

東京傳染病研究所長
醫學博士 北里柴三郎

日本ニハ古來「ペスト」ヲ知ラサリシカ千八百九十六年始メテ一商船ノ香港ヨリ病毒ヲ齎ラセシ以來本病毎ノ侵入セルコト已ニ三十六回ニ達セリ然レトモ其多數ニ於テハ輸入港ニ於テ直チニコレヲ撲滅セルヲ以テ著レキ流行ヲ起セルモノハ僅カニ三回ナリトス、

第一回ノ流行ハ千八百九十九年十月神戸市ニ起リ次ヲ大阪市ニ蔓延シ和歌山縣下湯浅町ノ流行ヲ終リトシ千九百一年四月ニ至リテ止メリ此流行ニ於テ患者二三一、死亡二〇八、有菌鼠二六二ヲ出セリ、

起テ千九百二年三月長崎市ニ於テ二名ノ「ペスト」ヲ出タセルモ流行

Первая страница рукописи Китасато Сибасабуро
「日本におけるペストの蔓延及び撲滅」
(«Вспышки и искоренение чумы в Японии»), любезно предоставленная Мемориальным музеем Образовательной корпорации Института Китасато

Прописи (рецептуры) некоторых питательных сред, применяемых для работы с возбудителем чумы

Среда Кери – Блэра (транспортная)

В 1000 мл дистиллированной воды суспендировать 1,1 г гидроортофосфата натрия, 1,5 г тиогликолята натрия, 5 г хлорида натрия и 5 г агара, после чего нагреть до полного растворения и охладить до 50°С. Добавить 9 мл 1%-ного водного раствора хлорида кальция; при необходимости довести pH до 8,4. Разлить по маленьким флаконам с завинчивающейся крышкой для предотвращения высыхания.

Низкий окислительно-восстановительный потенциал среды способствует длительному выживанию бактерий. Чумной микроб сохраняется в течение 75 суток.

Консервант Берлина и Бащевой

Смешивают вазелиновое масло и парафин в соотношении 3:1 или чистый вазелин, вазелиновое масло и безводный ланолин в соотношении 1:2:1.

Чумной микроб сохраняется в течение месяца.

Жидкость Брокэ для хранения кусочков органов

В 80 мл дистиллированной воды добавляют 20 мл глицерина и 2 г карбоната кальция. Разливают в ёмкости по 5–10 мл. Кусочки органов и фрагменты бедренной кости сохраняются в течение нескольких дней.

Бульон Хоттингера

Говяжье мясо очистить от жира, сухожилий и плёнок, нарезать кусочками толщиной около 1 см и длиной 3–4 см, опустить в кипящую воду в пропорции 1 кг мяса на 2 литра воды. Кипятить 20 минут, после чего выловить кусочки мяса и пропустить через мясорубку. Затем опустить в остуженную до 50°С воду (в которой кипело мясо) и добавить 3 мл/л карбоната натрия, 20–30 мл хлороформа и 100 г панкреатической железы, предварительно очищенной от плёнок и жира и пропущенной через мясорубку. Все ингредиенты заготовить заранее, чтобы в результате произведённых манипуляций вода не остыла. Посуду закрыть плотной бумагой во избежание испарения хлороформа и держать полтора суток при 45–50°С, когда вместо мяса на дне останется только незначительный тиноподобный осадок (переваривание окончено), а над ним – жидкость жёлтого цвета. Переваривать, хорошо перемешивая, каждые сутки при 37°С в течение 7–8 суток с ежедневным определением аминного азота. Манипуляции закончить, когда содержание аминного азота прекратит расти. Затем фильтровать и

добавить 20–30 мл/л хлороформа. Развести дистиллированной водой до содержания 100 мг% аминного азота, добавить 5 г/л хлорида натрия и кипятить 10–20 минут. Фильтровать и автоклавировать полчаса при 110°С.

Агар Хоттингера

Кипятить бульон Хоттингера, после чего добавить 2,3% предварительно замоченного агара и 1,2 г/л гидроортофосфата натрия до осветления[1]. Автоклавировать 40 минут при 115°С, после чего для осаждения оставляют на 18–20 часов при 60–70°С. Фильтровать надосадочную жидкость, после чего автоклавировать полтора часа при 100°С.

Для выращивания чумного микроба в бульон или агар добавить необходимые аминокислоты (см. Табл. 30.1 и 30.2). Для получения культуры, богатой капсульным антигеном, добавить среду 199 (3 мл добавки на 100 мл питательной среды).

Бульон Мартена

Неразрезанные свежие желудки, очищенные от жира и плёнок, промыть водой снаружи. Затем разрезать, очистить от внутреннего содержимого, не снимая слизь с внутренней стенки (работать осторожно, чтобы не удалить пепсин). Нарезать на большие куски и перемолоть. В литр воды, нагретой до 54°С, положить 200 г перемолотых желудков и добавить 10 мл соляной кислоты. Хорошо перемешать и оставить на сутки при 45–50°С (иногда перемешивая). Через сутки, когда на дне вместо мяса останется только незначительный тиноподобный осадок (переваривание окончено), автоклавировать 5 минут при 80–85°С (перемещать осторожно, чтобы не баламутить осадок). Далее остудить, фильтровать, подогреть до 80°С и добавить 20%-ный раствор гидроксида натрия (до pH 7), после чего кипятить 10 минут, фильтровать и смешать с равным объёмом профильтрованной мясной воды. Далее кипятить 30–40 минут и добавить 20%-ный раствор гидроксида натрия (до pH7,8). Автоклавировать 20 минут при 120°С (pH может несколько снизиться).

Следует учесть, что некоторые рецептуры предполагают добавление 1%-ного раствора хлорида натрия, однако при работе с возбудителем чумы это запрещено!

Агар Мартена

К бульону Мартена добавить 20%-ный раствор гидроксида натрия (до pH 8) и 2,3% предварительно замоченного на 10–15 минут агара. Автокла-

[1] Осветлять можно яичным белком, для чего сваренный агар остудить до 50 °С и влить в него, помешивая, яичный белок, в равных долях смешанный с дистиллированной водой (20–30 мл на 1 литр).

вировать 20 минут при 120°С или кипятить 30 минут после закипания. После розлива во флаконы автоклавировать ещё 20 минут при 115°С.

Для выращивания чумного микроба в бульон или агар добавить необходимые аминокислоты (см. Табл. 30.1 и 30.2).

Кровяной агар на основе овечьей крови (SBA)

Растворить в 1000 мл дистиллированной воды 14 г панкреатического перевара казеина, 4,5 г нейтрализованного пептона, 4,5 г дрожжевого экстракта, 6 г хлорида натрия, 50 мл дефибринированной овечьей крови и 12,5 г агара. Хранить при температуре 4 –8°С.

Среда LB

Растворить в 800 мл дистиллированной воды 10 г триптона (т. е. получаемая гидролизом казеина протеазой трипсином смесь пептидов), 5 г дрожжевого экстракта и хлорид натрия (0,5 г по Luria, 5 г по Lennox, 10 г по Miller), после чего довести дистиллированной водой до конечного объёма 1000 мл. Для получения твёрдой среды добавить 15 г агара. Автоклавировать 15 минут при 121°С, охладить до 45–50°С и тщательно перемешать.

Среда 199 (питательная добавка)

К основному раствору Хенкса добавить среду М199, то есть в 700–800 мл дистиллированной воды развести 80 мг хлорида натрия, 4 мг хлорида калия, 1 мг семиводного сульфида магния, 1 мг шестиводного хлорида магния, 0,6 мг дигидрофосфата натрия (можно заменить на 0,75 мг двуводного или 1,5 мг двенадцативодного), 0,6 мг дигидроортофосфата калия, 10 мг глюкозы, 1,4 мг хлорида кальция (можно заменить на 1,85 мг одноводного или 2,76 шестиводного), после чего довести дистиллированной водой до 1000 мл и добавить 25 мг L-аланина, 70 мг L-аргинина хлорида, 30 мг аспарагиновой кислоты, 0,0987 мг L-цистеина хлорида, 66,82 мг L-глютаминовой кислоты, 100 мг L-глютамина, 0,05 мг глютатиона, 50 мг глицина, 21,88 мг L-гистидина хлорида одноводного, 10 мг L-гидрооксипролина, 20 мг L-изолейцина, 60 мг L-лейцина, 70 мг L-лизина хлорида, 15 мг L-метионина, 25 мг L-фенилаланина, 40 мг L-пролина, 25 мг L-серина, 30 мг L-треонина, 10 мг L-триптофана, 49,72 мг L-тирозина двунатриевой соли, 25 мг L-валина, 0,05 мг L-аскорбиновой кислоты, 0,01 мг биотина, 0,1 мг кальциферола, 0,01 мг D-кальция пантотената, 0,5 мг хлорида холина, 0,01 мг фолиевой кислоты, 0,05 мг инозитола, 0,019 мг трёхводного бисульфата менафтона натрия, 0,025 мг никотиновой кислоты, 0,025 мг никотинамида, 0,05 мг пара-амино-бензойной кислоты, 0,025 мг пиридоксальхлорида, 0,025 мг пиридоксинхлорида, 0,01 мг рибофлавина, 0,01 мг хлорида тиамина, 0,01 мг D-L-токоферола фосфата двунатриевой соли, 0,1147 мг ацетата витамина А, 185,5 мг хлорида кальция двуводного,

400 мг хлорида калия, 60 мг дегидроортофосфата калия, 200 мг сульфата магния семиводного, 8000 мг хлорила натрия, 47,5 мг гидроортофосфата натрия, 10 мг сульфата аденина, 0,2 мг 5-АМФ, 10 мг двунатриевой соли АТФ, 0,2 мг холестерола, 0,5 мг 2-дезоксирибозы, 1000 мг D-глюкозы, 0,3 мг хлорида гуанина, 0,3 мг гипоксантина, 0,5 мг D-рибозы, 36,71 мг ацетата натрия, 0,3 мг тимина, 5 мг твин-80, 0,3 мг урацила и 0,3 мг ксантина. Профильтровать (после фильтрации конечный pH может снизиться на 0,1–0,3).

Среда с кровью и генцианвиолетом (по В. М. Туманскому)

К 100 мл предварительно расплавленного и остуженного до 45°С агара Хоттингера или Мартена добавить 1 мл лизированной крови и 0,5–1 мл спиртоводного раствора генцианвиолета. Приготовленный агар должен иметь бледно-фиолетовый цвет.

Среда с сульфитом натрия и генцианвиолетом (по Г. Н. Ленской)

К 100 мл предварительно расплавленного и остуженного до 45°С агара Хоттингера или Мартена добавить 1 мл свежеприготовленного 2,5%-ного раствора сульфита натрия и 0,5–1 мл спиртоводного раствора генцианвиолета. Приготовленный агар должен иметь слабо-фиолетовую окраску, более светлую, чем у агара с кровью и генцианвиолетом, поскольку сульфит натрия несколько восстанавливает генцианвиолет.

Среда цветная дифференциальная (Л. А. Тимофеевой)

В 1000 мл дистиллированной воды размешать 8 г панкреатического гидролизата казеина, 3 г хлорида натрия, 0,69 г дигидрофосфата натрия, 0,69 г глюкозы, 9,6 г лактозы, 4,8 г мочевины, 0,09 г фуксиновой кислоты (фуксина кислого), 0,09 г бромтимолового синего и 8,65 г агара, довести до кипения и кипятить примерно 3–5 минут до полного растворения агара. Затем фильтровать и разлить в пробирки таким образом, чтобы поверхность скошенной части была в два раза больше высоты столбика. Автоклавировать текучим паром (т. е. при 100°С с открытым выпускным клапаном) 30 минут трёхкратно.

Среда для изучения подвижности

Растворить в 1000 мл дистиллированной воды 4 г панкреатического гидролизата казеина, 4 г хлорида натрия, 1 г дигидрофосфата натрия и 4 г агара, после чего довести до кипения и кипятить до полного растворения. Далее фильтровать и автоклавировать 20 минут при 121°С.

Среда для определения пестициногенной активности

В 1,5%-ный агар Хоттингера (pH 7,2) добавить раствор генцианвиолета (0,2 мл на 100 мл среды, т. е. 1:500000). Разливать по чашкам не более 20 мл.

Среда HmsD (по Е. Г. Булгаковой с соавт.)

Растворить в 1000 мл дистиллированной воды 0,75 г Casamino acids vitamin free (Difco Laboratories), 0,15 г сульфита натрия, 1,35 г агара (Difco Laboratories), 1 мкг бромида тиамина, 3 мг конго красного и довести при необходимости до pH 7,2.

Среда $HmsD_{pstbc}$ (по Е. Г. Булгаковой с соавт.)

Растворить в 1000 мл дистиллированной воды 0,35 г Casamino acids vitamin free (Difco Laboratories), 0,075 г сульфита натрия, 1,35 г агара (Difco Laboratories), 1 мкг бромида тиамина, 3 мг конго красного и довести при необходимости до pH 7,2.

Среда для определения потребности в ионах кальция (Иркутский научно-исследовательский противочумный институт)

В 1000 мл дистиллированной воды растворить 12 г ферментативного гидролизата казеина, 1,2 г ферментативного гидролизата кормовых дрожжей, 1,5 г D-глюкозы, 1 г цитрата натрия, 4 г хлорида магния, 2,5 г дигидроортофосфата калия, 7,5 г гидроортофосфата калия, 0,5 г молибдата аммония, 0,0025 г кристаллвиолета и 6–8 г агара, после чего довести до кипения при постоянном помешивании. Кипятить 3–5 минут до полного растворения, охладить до 40–50°С, тщательно взболтать и разлить по 25 мл в стерильные чашки.

Для удаления конденсата чашки со средой приоткрыть и выдержать 35–45 минут при 19–24°С.

Кроличья плазма для изучения фибринолитической и коагулазной активности

В пробирку с 1 мл 5%-ного раствора цитрата натрия добавить 9 мл крови кролика (доступ из краевой вены уха), после чего центрифугировать 15 минут (3000 об/мин) или поставить в холодильник на 18–20 часов. Образовавшуюся прозрачную надосадочную жидкость отсасывают и хранят в холодильнике до 10 дней (при −25°С до полугода).

Среда Гиса

В 1000 мл дистиллированной воды растворить 20 г пептона сухого ферментативного, 5 г хлорида натрия, 1 г интересующего углевода. Добавить 15 мл индикатора Андреде, который готовят растворением 0,5 г фуксина в 100 мл дистиллированной воды с последующим добавлением 15 мл NaOH. Когда через 24 часа цвет раствора изменится с красного на коричневый, по каплям добавляют NaOH до конечной pH 7,1–7,2 (цвет раствора установится соломенно-жёлтым). Полученную питательную среду разлить в флаконы с герметичной упаковкой и автоклавировать 15 минут при 112°С.

Лактозо-сахарозный агар

(двухсахарный агар по Ресселю)

В 1000 мл дистиллированной воды растворить 2,5 г пептического перевара животной ткани, 7,5 г гидролизата казеина, 3 г мясного экстракта, 10 г лактозы, 1 г глюкозы, 5 г хлорида натрия, 0,025 г фенолового красного[1] и 15 г агара. Тщательно размешать и кипятить до полного растворения, после чего автоклавировать 15 минут при 118–121°C. Остудить в наклонном положении для формирования скошенной части («косяка»); pH 7,3 ± 0,2. Хранить при температуре 2–8°C.

Цистеин-триптиказовый агар (полутвёрдый)

В 1000 мл дистиллированной воды растворить 20 г панкреатического перевара казеина, 5 г хлорида натрия, 0,5 г L-цистеина, 0,5 г сульфита натрия, 0,017 г фенолового красного и 3,5 г агара. Тщательно размешать и кипятить до полного растворения, после чего автоклавировать 15 минут при 121°C. Остудить до 50°C и добавить необходимый углевод; pH 7,3 ± 0,2.

Для приготовления углевода в 100 мл дистиллированной воды растворить 1 г углевода (в случае инозита 0,5 г) и добавить по каплям бромтимолблау до установления зелёной окраски, после чего автоклавировать 15 минут при 121°C. После остывания раствор должен приобрести болотно-зелёную окраску (наличие синей окраски свидетельствует о нарушении пропорций).

ONPG-бульон

В мерном флаконе объёмом 100 мл растворить 13,8 г Na_2HPO_4 в 50 мл воды, прогретой до 37°C. В вытяжном шкафу медленно добавить примерно 15 мл NaOH, достигая pH 7, и долить дистиллированную воду до 100 мл. Добавить 0,6 г OMPG и стерилизовать фильтрованием. Данный раствор в стерильных затемнённых условиях, при 2–8°C, остаётся стабильным 3 месяца.

Для приготовления бульона к 25 мл полученного раствора добавить 75 мл пептонной воды, полученной растворением 1 г пептона в 1000 мл дистиллированной воды (автоклавировать 15 минут при 121°C). Бульон сохраняет стабильность при −20°C месяц.

Желатиновая среда

Растворить 120 г желатина в 1000 мл дистиллированной воды, разогретой до 50°C. Добавить 3 г мясного экстракта и 5 г пептона, догреть до 50°C.

[1] В оригинальной рецептуре указан лакмус.

Довести pH до 6,8–7,0. Разлить в пробирки по 4–5 мл «столбиком», после чего автоклавировать 15 мин при 121°С. Остудить и хранить при 2–8°С.

Среда Олькеницкого

(тройной сахарный агар с железом; железо-глюкозо-лактозный агар с мочевиной)

Расплавить 25 г сухого питательного агара (pH 7,2–7,4) в 1 л дистиллированной воды и остудить до 50°С. В пробирке растворить 0,2 г сульфата аммония-железа (II) (соль Мора) и 0,3 г тиосульфата натрия. В колбе на водяной бане растворить 10 г лактозы, 10 г сахарозы, 1 г глюкозы и 10 г мочевины. В другой пробирке растворить 0,1 г фенолового красного в 25 мл дистиллированной воды (данный раствор индикатора можно сохранять до 10 дней). Растворы из первой пробирки и колбы добавить к расплавленному агару, размешать и фильтровать черз марлю. Внести раствор из второй пробирки (индикатор) и разлить в пробирки по 5–6 мл. Стерилизовать 20 минут при 112°С и затем поместить в наклонном положении для застывания агара в виде скошенного столбика («косяка») – столбик около 2,5 см, скошенная часть около 4 см. Готовая среда бледно-розовая. Сохраняет стабильность при хранении в тёмном месте в течение 2 недель при температуре 2–8°С и в течение 3 суток при температуре 18–25°С.

Интерпретация результатов (через 18–24 ч): жёлтый столбик – микроорганизм ферментирует глюкозу, жёлтая скошенная часть – микроорганизм ферментирует лактозу, малиновая (красная) вся среда или скошенная часть – микроорганизм ферментирует мочевину (в данной ситуации возможна маскировка ферментации глюкозы и лактозы), чёрный столбик – образование сероводорода.

Среда Клиглера

Приготавливается как среда Олькеницкого, только без сахарозы.

Среда Кларка

Растворить в 1000 мл дистиллированной воды 5 г монокалийфосфата, 5 г декстрозы, 3,5 г панкреатического гидролизата казеина и 3,5 г пептического перевара животной ткани. Осторожно нагреть до полного растворения и распределить по 10 мл в пробирку. Готовая среда имеет светло-жёлтый цвет. Автоклавировать при 121°С в течение 15 минут.

Агар Кристенсена с мочевиной

Рецепт I. Растворить в 100 мл дистиллированной воды 1 г пептона, 5 г хлорида натрия, 1 г глюкозы, 2 г дигидрофосфата калия, 20 г мочевины и 0,012 г фенолового красного. Допускается использовать 6 мл фенолового красного в концентрации 1:500 (0,2 г фенолового красного на 100 мл дис-

тиллированной воды). Доводят pH до 6,8–6,9 и фильтруют. Указанное добавить к жидкому агару, полученному путём растворения 15 г агара в 900 мл дистиллированной воды, автоклавирования 15 мин при 121°С и остужения до 50–55°С.

Рецепт II. Расворить в 1000 мл дистиллированной воды 1 г сухого пептона, 5 г хлорида натрия, 20,2 г агар-агара и 1 г глюкозы. Смесь кипятить до полного растворения агара, доливая при выкипании до изначального объёма горячую дистиллированную воду, после чего по каплям добавить 20%-ный раствор гидроксида натрия (до pH 6,8). Далее добавить 0,012 г фенолового красного, растворённого в 1 мл 96%-ного раствора этилового спирта, размешать и фильтровать. Автоклавировать 20 минут при 121°С. Среда должна приобрести апельсиновый цвет. Когда агар остынет до 50°С, добавить равный объём 20%-ного раствора мочевины на бидистиллированной воде (20 г мочевины растворяют в бидистиллированной воде и кипятят на водной бане полчаса после закипания). Цвет агара побледнеет до жёлтого.

Уреазный бульон Рустигана – Стюарта

Растворить в 100 мл дистиллированной воды 20 г мочевины, 9,1 г дигидрофосфата калия, 9,5 г гидрофосфата натрия, 0,1 г дрожжевого экстракта и 0,01 г фенолового красного, после чего фильтровать.

Нитратный бульон

К 100 мл дистиллированной воды добавить 20 г бакто-пептона и 2 г нитрата калия, доведя pH до 7. Разлить по 4 мл в пробирки и автоклавировать 15 минут при 121°С.

Среда Коля – Белькура

К 100 мл предварительно расплавленного и остуженного до 45°С агара Хоттингера или Мартена добавить 2 мл глицерина, после чего добавить 1–5 мл лакмуса или реактива Андреде. Хорошо перемешать и автоклавировать полчаса при 110°С.

Агар Мюллера – Хинтон

В 1000 мл дистиллированной воды растворить 300 г вытяжки из говядины, 17,5 г кислотного гидролизата казеина, 1,5 г крахмала и 17 г агара, после чего кипятить до полного растворения. Добавить 20%-ный раствор гидроксида натрия (до pH 7,3) и автоклавировать 15 минут при 121°С.

Среда Гивенталя – Ведьминой (АГВ)

Растворить в 1000 мл дистиллированной воды 20 г гидролизата кильки панкреатического (или лизата кормовых дрожжей, осветлённого ферментами), 5 г крахмала, 10 г хлорида натрия, 1 г гидроортофосфата натрия и

13,5 г агара, после чего кипятить до полного растворения. При необходимости добавить 20%-ный раствор гидроксида натрия (до pH 7,4) и автоклавировать 20 минут при 121°С.

В случае использования среды для определения чувствительности к антибиотикам перед непосредственным розливом на чашки добавить 5%-ной стерильной дефибринированной крови животных.

Методика определения аминного азота

К 2 мл исследуемого раствора добавить 18 мл дистиллированной воды, после чего по каплям прибавляют 0,5%-ный водный раствор нейтрального красного (3-амино-6-диметиламино-2-метилфеназоний хлористый). В зависимости от pH раствор станет красно-малиновым (кислая среда) или жёлтым (щелочная среда). Добавлением, соответственно, кислоты или щёлочи следует установить pH 7,2 (желтовато-красный оттенок раствора) и добавить 2,5 мл формольной смеси [1]. Раствор приобретёт малиново-жёлтую окраску вследствие разрушения аминогрупп. Далее титруют щёлочью (NaOH), то есть по каплям добавляют раствор щёлочи (постоянно помешивая) до перехода цвета раствора из малиново-жёлтого в красную, отмечая количество израсходованной щёлочи.

Массовая доля (содержание) аминного азота рассчитывают исходя из количества щёлочи, пошедшего на титрование, и того, что 1 мл 0,1 моль/л гидроксида натрия соответствует 1,4 мг азота, что выражается формулой:

$$\omega_N = \frac{V_{NaOH} \cdot 140}{V_{р-ра}},$$

где V_{NaOH} – количество 0,1 м/л щёлочи, пошедшей на титрование; $V_{р\text{-}ра}$ – количество исследуемого раствора.

[1] Способ приготовления: 50 см³ раствора формалина с массовой долей 30% и 0,1 см³ спиртового раствора фенолфталеина с массовой долей 1%; смесь доводят раствором гидроксида натрия с концентрацией 0,2 моль/дм³ до слабо-розового цвета.

Список литературы

1. Абдел З. Ж., Ерубаев Т. К., и др. *Демаркация границ Центральноазиатского пустынного природного очага чумы Казахстана и мониторинг ареала основного носителя Rhombomys opimus*. Проблемы особо опасных инфекций. 2021; 2:71–78; DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-71-78.
2. Акиев А. К. *Состояние вопроса по изучению механизма сохранения возбудителя чумы в межэпизоотические годы*. Проблемы особо опасных инфекций. 1970; 4(14):13–33.
3. Алёшина Е. Н. *Элиминация чумного микроба желчью и мочой при подкожном методе заражения белых мышей,* в сб. *Труды Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института*, Ростов-на-Дону, 1945; 4:12–14.
4. Алёшкин А. В., Алёшкин В. А., и др. *Бактериофаги в инфекционной патологии. Часть I: история исследований до широкого применения антибиотиков*. Астраханский медицинский журнал. 2016; 2(11):816.
5. Анисимов А. П. *Факторы Yersinia pestis, обеспечивающие циркуляцию и сохранение возбудителя чумы в экосистемах природных очагов. Сообщение 1*. Молекулярная генетика. 2002; 3:3–23.
6. Анисимов А. П. *Факторы Yersinia pestis, обеспечивающие циркуляцию и сохранение возбудителя чумы в экосистемах природных очагов. Сообщение 2*. Молекулярная генетика. 2002; 4:3–11.
7. Анисимова Т. И., Митина Г. С., и др. *Изготовление и изучение национального референс-препарата чумной живой сухой вакцины*. Профилактика особо опасных инфекций. 1976; 1:89–94.
8. Апарин Г.П. *О влиянии малахитовой зелени на рост возбудителей чумы, псевдотуберкулёза и некоторых других микробов*, в сб. *Известия Иркутского Государственного Научно-Исследовательского Противочумного института Сибири и Дальнего Востока. Том XVIII,* Улан-Удэ. 1958, 172 с.
9. Арсеньева Т. Е. *Эффективные приёмы видовой идентификации атипичных штаммов возбудителей чумы, псевдотуберкулёза и их рекомбинантов*. Дис. … кандидата биологических наук. Оболенск, 2017, 23 с.
10. Арутюнов Ю. И. *Случай инфицирования людей в природных очагах США и сложность их выявления*. Журн. микробиол. 2016; 6:94–100.
11. Архангельский Г. Ф. *Амбулаторные формы чумы (Pestis ambulans) и её значение в эпидемиологии*. Сборник сочинений по судебной медицине, судебной психиатрии, медицинской полиции, общественной гигиене, эпидемиологии, медицинской географии и медицинской статистике. 1879; 1:132–193.
12. Базарон Э. Г., Асеева Т. А. *«Вайдурья-онбо» – трактат индо-тибетской медицины,* Новосибирск: Наука, 1984, 116 с.
13. Базарон Э. Г., Баторова С. М. *Рецептурные прописи тибето-монгольской медицины*, с. Верхняя Иволга: Издательство буддийского института «Даши Чойнхорлин», 2001, 176 с.
14. Балахонов С. В., Белькова С. А., и др. *Чувствительность чумного микроба из сибирских природных очагов к антибактериальным препаратам in vitro.* Клиническая лабораторная диагностика. 2013; 4:36–40.
15. Балахонов С. В., Корзун В. М., и др. *Первый случая выделения Yersinia pestis subsp. pestis в Алтайском горном природном очаге чумы. Сообщение 2. Вероятные пути и механизмы заноса возбудителя чумы основного подвида на территорию очага*. Проблемы особо опасных инфекций. 2013; 2:5–9.

16. Балахонов С. В., Ярыгина М. Б., и др. *Молекулярно-генетическая характеристика штаммов Yersinia pestis, выделенных на монгольской территории трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы*. Проблемы особо опасных инфекций. 2019; 3:34–42; DOI:10.21055/0370-1069-2019-3-34-42.
17. Барсуков А. Н., Агафонов О. И., и др. *Применение повидон-йода в профилактике инфекций области хирургического вмешательства.* РМЖ. 2018; 12:11.
18. Башкуев В. Ю. *Советская медико-санитарная помощь Монголии и Центральной Азии в 1930-е годы*, Вестник Бурятского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук, 2011; 3:35–42.
19. Безсонова А. А. *О двух разновидностях B. pestis, обнаруживаемых при росте на глицериновых средах*. Вестник микробиологии. 1928; 7(3):250–253.
20. Биргер О. Г., Богомолец А. А., и др. *Общая и специальная бактериология*. Том I. Москва, Ленинград: Государственное издательство, 1930, 689 с.
21. Божко Н. В. *Получение диагностических препаратов на основе антигенов чумного микроба, выделенных поверхностно-активными веществами*. Автореферат дис. … кандидата биологических наук. Ростов-на-Дону, 1972, 23 с.
22. Божко Н. В., Король В. В., и др. *Диагностические препараты на основе фракции V чумного микроба*, в сборн. *Материалы научной конференции, посвящённой 70-летию НИИ микробиологии МО РФ «Диагностическое лечение и профилактика опасных инфекционных заболеваний»*, Киров, 1998, 58 с.
23. Божко Н. В., Лебедева С. А., и др. *Первичная характеристика свойств и диагностической ценности антигенного комплекса «фракция V» чумного микроба*. Клиническая лабораторная диагностика. 2005; 6:45–49.
24. Боровикова Т. П. *Характеристика специфических полисахаридсодержащих комплексов сувкультур штамма ЕВ чумного микроба*. Автореферат дис. … кандидата биологических наук, Саратов, 1972, 14 с.
25. Бромлей Ю. В., Воронов А. А. *Народная медицина как предмет этнографического исследования.* Советская этнография. 1976; 5:3–18.
26. Бронштейн О. И. *Заразные болезни и борьба с ними: с 22 рис. в тексте и портретом Г. Н. Габричевского (Гигиенич. Ком. при Пироговском Обществе Русских Врачей удост. полов. премии имени Г. Н. Габричевского),* Москва: Типография В.М. Саблина, 1912, 83 с.
27. Булат С. А., Михайлов Н. В., и др. *Геноидентификация видов и сероваров бактерий методом полимеразной цепной реакции с универсальными олигонуклеотидами: реидентификация ранее выделенных сероваров Yersinia pseudotuberculosis*. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1991; 12:2–7
28. Булгакова Е. Г., Краснов Я. М., и др. *Особенности проявления признака пигментации и структурные различия генов hms-оперона у штаммов Y. pestis и Y. pseudotuberculosis разного происхождения.* Проблемы особо опасных инфекций. 2011; 2:30–35.
29. Булгакова Е. Г., Краснов Я. М., и др. *Структурная организация интактных и нарушенных IS100 элементом генов порина, граничащих с pgm-областью у штаммов Yersinia pestis и Yersinia pseudotuberculosis.* Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2016; 2:49 57; DOI: 10.18821/0208-0613-2016-34-2-49-57.
30. Быков С. Г. *О влиянии чумы на половую сферу женщины*. Вестник микробиологии, эпидемиологии и паразитологии. 1926; V(3).
31. Вагайская А. С. *Бактериальные тени Yersinia pestis*. Дис. … кандидата биологических наук. Оболенск, 2023, 126 с.
32. Вагайская А. С., Дентовская С. В., и др. *Бактериальные тени возбудителей особо опасных инфекций*. Проблемы особо опасных инфекций. 2023; 1:17–26; DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-17-26.

33. Вагайская А. С., Трунякова А. С., и др. *Моделирование экспериментальной чумы в условиях лаборатории уровня биобезопасности 2*. Проблемы особо опасных инфекций. 2021; 4:46–53; DOI: 10.21055/0370-1069-2021-4-46-53.
34. Вержуцкий Д. Б. *Природные очаги чумы Китая: аннотированный список*, Байкальский зоологический журнал. 2022; 2(32):135–145.
35. Вержуцкий Д. Б., Адъясурэн З. *Природные очаги чумы в Монголии: аннотированный список*, Байкальский зоологический журнал. 2019; 2(25):92–103,
36. Видяева Н. А., Гаева А. В., и др. *Сравнительная характеристика антиокислительных ферментов штаммов Yersinia pestis различных подвидов и Yersinia pseudotuberculosis*. Проблемы особо опасных инфекций. 2008; 96:29–32.
37. Габричевский Г. *Медицинская бактериология*, изд. 4-е, посмертное, Москва: Типолитография Т-ва И. Н. Кушнеревъ и К⁰, 1909, 560 с.
38. Габричевский Г. Н. *Бубонная чума и меры борьбы против неё (с одной таблицей рисунков): Лекция, читанная студентам 11 февраля 1897 г., исправлена и дополнена во втором издании 194 г.*, Москва: т-во скоропеч. А. А. Левенсонъ, 1904, 30 с.
39. Гамалея Н. Ф. *Бактериолизины – ферменты, разрушающие бактерии*. Русский архив патологии, клинической медицины и бактериологии. 1898; 6:148–161; цит. по D. Bardell (1982): «N. F. Gamaleya, '*Bacteriolysins – ferments destroying bacteria*', Russian Archives of Pathology, Clinical Medicine, and Bacteriology, 1898, 6, 607-613 (in Russian)».
40. Германчук В. Г., Кислицина Е. В., и др. *Технические и проектные особенности специализированных лабораторий для работы с инфицированными животными*. Здоровье населения и среда обитания. 2021; 1(12):87–92; DOI: 2219-5238/2021-29-12-87-92.
41. Германчук В. Г., Морозов К. М., и др. *Обеспечение биологической безопасности в лаборатории для работ с заражёнными животными*. Здоровье населения и среда обитания. 2016; 12(285):44–48.
42. Голубинский Е. П., Жовтый И. Ф., и др. *О чуме в Сибири*, Иркутск: Изд-во Иркут. ун-та, 1987, 244.
43. Гордиенко Е. В. *Европеец во вьетнамском пантеоне: культ бактериолога Александра Персена (1863–1943) в современном Вьетнаме*. Вестник РГГУ. Серия «Литературоведение. Языкознание. Культурология». 2021; 9:25–48; DOI: 10.28995/2686-7249-2021-9-25-48.
44. Гордиенко Е. В. *Культ духов-покровителей общин во Вьетнаме (тханьхоанг) как феномен современной культуры*. Дис. … кандидата культурологии. Москва, 2023, 277 с.
45. Горелова Л. Е. *Чума в Москве (1771–73 гг),* РМЖ. 2002; 16:738.
46. Горюнова П. А., Ерошенко Г. А., и др. *Прикаспийский песчаный природный очаг: филогенетическая история и происхождение штаммов Yersinia pestis*. Проблемы особо опасных инфекций. 2022; 3:61–69; DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-61-69.
47. Григорис. *Анализ природы человека и его недугов: Сост. А. С. Куоян; под ред. А. С. Хачикяна*. Ереван: изд. АН АрмССР, 1962, 267 с.
48. Григорьевых А. В., Бочалгин Н. О., и др. *Анализ особенностей геномной организации штаммов чумного микроба, пригодных для создания новой аттенуированной вакцины*. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2022; 21(5):49–57; DOI: 10.31631/2073-3046-2022-21-5-49-57.
49. Дентовская С. В. *Молекулярно-генетические механизмы образования и функциональная значимость липополисахарида Yersinia pestis*. Дис. … доктора медицинских наук, Москва, 2012, 304 с.
50. Дентовская С. В., Платонов М. Е., и др. *Наличие полной структуры кора липополисахарида необходимо для активации плазминогена возбудителя чумы*. Проблемы особо опасных инфекций. 2007; 93:49–51.

51. Дентовская С. В., Трунякова А. С., и др. *К вопросу о критериях перевода аттенуированных штаммов Yersinia pestis из I в III группу патогенности (опасности)*. Проблемы особо опасных инфекций. 2022; 2:20–26; DOI: 110.21055/0370-1069-2022-2-20-26.
52. *«Дзейцхар Мигчжан» – памятник тибетской медицины, пер. С. М. Баторовой, Г.П. Яковлева*, Новосибирск: Наука, 1985, 87 с.
53. Долгова Т. М., Загоскина Т. Ю., и др. *Учебно-методическое пособие к практическим занятиям по лабораторной диагностике чумы: для врачей-бактериологов (биологов) и преподавателей*. Иркутск: ФКУЗ «Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», 2017, 102 с.
54. Долгова Т. М., Токарева Л. Е., и др. *Руководство к практическим занятиям по дифференциальной диагностике возбудителей чумы, энтеропатогенных иерсиниоза (псевдотуберкулёза и кишечного иерсиниоза) и пастереллёза: учебно-методическое пособие для врачей-бактериологов*. Иркутск: ФКУЗ «Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», 2012, 32 с.
55. Домарадский И. В. *Очерки патогенеза чумы*. М.: Медицина, 1966. 270 с.
56. Домарадский И. В. *Перевёртыш (рассказ «неудобного человека»)*. М.: [б. и.], 1995. 176 с.
57. Домарадский И. В. *Чума*. М.: Медицина, 1998, 174 с.
58. Домарадский И. В., Яромюк Г. А., и др. *О коагуляции плазмы чумным и псевдотуберкулёзным микробами*. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1963; 7:79–82.
59. Домотенко Л. В., Подкопаев Я. В., и др. *Питательные среды для диагностики чумы*. Проблемы особо опасных инфекций. 2009; 4(102):60–66; DOI: 10.21055/0370-1069-2009-4(102)-60-65.
60. Донсков В. В. *Поражения надпочечников как один из основных танатогенных факторов при чуме*. Медицинский бюллетень (Иркутск). 1939; 1:23.
61. Дорожко О. В., Кузнецова К. А., и др. *Методические рекомендации по выявлению глоточного бактерионосительства при чуме*, Саратов, 9 с.
62. Дудина Л. Г. *Иммунохимическая характеристика рецепции бактериями Yersinia pseudotuberculosis и Yersinia pestis специфических бактериофагов*. Дис. … кандидата биологических наук. Киров, 2018, 146 с.
63. Дэси Сангъе Гйамцо, Чойдже Лобсанг Вангйел. *Тибетский медицинский трактат Ахантаб ченгйаб данче. Том 1., пер. А. А. Кособуров,* Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2017, 130 с.
64. Дятлов И. А., Анисимов А. П., и др. *Вакцина чумная молекулярная микроинкапсулированная (ВЧММ)*. Бактериология. 2018; 3(1):74–75.
65. Евсеева В. В., Платонов М. Е., и др. *Активатор плазминогена чумного микроба*. Инфекция и иммунитет. 2015; 5(1):27–36; DOI: 10.15789/2220-7619-2015-1-27-36.
66. Ельцин Б. *Исповедь на заданную тему: Размышления, воспоминания, впечатления*… М.: Российская политическая энциклопедия (РОССПЭН), 2008, 191 с.
67. Ерошенко Г. А., Видяева Н. А., и др. *Изучение образования биоплёнки у беспигментных и бесплазмидных мутантов штамма Yersinia pestis на биотических поверхностях в условиях in vitro и in vivo*. Проблемы особо опасных инфекций. 2012; 113:45–49.
68. Ерошенко Г. А., Джапарова А. К., и др. *Филогеография штаммов Yersinia pestis ветви 0.ANT, выделенных в Тянь-Шане и Памиро-Алае в XX–XXI веках*. Проблемы особо опасных инфекций. 2020; 1:76–84; DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-76-84.
69. Ерошенко Г. А., Куклева Л. М., и др. *Исторические и современные классификации возбудителя чумы*. Проблемы особо опасных инфекций. 2022; 4:14–22; DOI: 10.21055/0370-1069-2022-4-14-22.

70. Ерошенко Г. А., Одиноков Г. Н., и др. *Антибиотикоустойчивые штаммы возбудителя чумы и разработка способа их детекции методом полимеразной цепной реакции*. Проблемы особо опасных инфекций. 2011; 107:53–57.
71. Ерошенко Г. А., Одиноков Г. Н., и др. *Вариабельность генов AspA у штаммов Yersinia pestis*. Проблемы особо опасных инфекций. 2009; 99:52–54.
72. Жуков-Вережников Н. Н. *Иммунология чумы (основы специфической терапии и профилактики бубонной и лёгочной чумы)*. Москва-Ленинград: Государственное издательство медицинской литературы «Медгиз», 1940, 267 с.
73. Заболотный Д. *Невидимые враги или микробы*. Берлин: Государственное издательство Р.С.Ф.С.Р. по договору с Издательством З. И. Гржебина – Alle Rechte, einschließlich des Übersetzungsrechtes, vorbehalten Copyright 1923 by Z. J. Grschebin Verlag, Berlin, 1923, 36 с.
74. Заболотный Д. К. *Основы эпидемиологии. Том первый*, Москва-Ленинград: Государственное издательство, 1927, 202 с.
75. Завертан Д. А. *Онтологический смысл японского понятия «тама» (дух): герменевтический анализ хроники «Кодзики»*. Ойкумена. Регионоведческие исследования. 2021; 2:155–164; DOI: 10.24866/1998-6785/2021-2/155-164.
76. Иванова А. В., Зубова А. А., и др. *Распространение в мире инфекционных болезней, значимых для обеспечения эпидемиологического благополучия международных сообщений: справочное эпидемиологическое издание в пяти томах. Том IV. Африканский регион. Под редакцией академика РАН, доктора медицинских наук, профессора В. В. Кутырева*, Саратов: ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, 344 с.
77. Иванова В. С., Лебедева С. А., и др. *Скрининг плазмид у музейных штаммов чумного микроба, выделенных из разных природных очагов*. Молекулярная генетика, микробиология, вирусология. 1990; 3:16–18.
78. Ильина Т. С. *Нитчатые бактериофаги и их роль в вирулентности и эволюции патогенных бактерий.* Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2015; 1:3–10.
79. *Инфекционные болезни: национальное руководство, под ред. Н. Д. Ющука, Ю. Я. Венгерова,* 3-е изд., перераб. и доп., Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2021, 1104 с.
80. Кадникова Л. А., Копылов П. Х., и др. *Капсульный антиген чумного микроба.* Инфекция и иммунитет. 2015; 5(3):201–218; DOI: 10.15789/2220-7619-2015-3-201-218.
81. Касторский Е. С. *Эпидемия лёгочной чумы на Дальнем Востоке 1910–1911 гг. и меры борьбы с нею*, Иркутск: Типография М. П. Окунева, 1911, 115 с.
82. Кисличкина А. А., Платонов М. Е., и др. *Рациональная таксономия Yersinia pestis.* Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2019; 37(2):76–82; DOI: 10.17116/molgen20193702176.
83. Кисличкина А. А., Сизова А. А., и др. *Реконструкция полной последовательности генома штамма Yersinia pestis subsp. microti bv. talassica B-7074 (A-1807),* в сб. *Материалы VIII Национального конгресса бактериологов (Москва, 27–28 сентября 2023 года)*, М.: Издательство «Династия», 2023, 162 с.
84. Кишенский Д. П., Тизенгаузен М. М., и др. *Патологическая анатомия чумы*, в сборн. *Чума и холера в Одессе в 1910 году: патолого-анатомическая часть*, Одесса: Изд. Одес. гор. обществ. упр., Тип. Л. Нитче, 1911, 220 с.
85. Книрель Ю. А., Анисимов А. П. *Липополисахарид чумного микроба Yersinia pestis: структура, генетика, биологические свойства.* Acta Nature. 2012; 4(3):49–61.
86. Корзун В. М., Балахонов С. В. и др. *Интродукция возбудителя чумы основного подвида в поселения серого сурка в Юго-Восточном Алтае.* Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2017; 4:20–28.

87. Корзун В. М., Денисов А. В. и др. *Новая эпизоотическая территория в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы на плоскогорье Укок*. Проблемы особо опасных инфекций. 2021; 1:103–109; DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-103-109.
88. Коробкова Е. И. *Действие бактериофага на R- и S-варианты чумы и появление авирулентных мутантов*. Вестник микробиологии, эпидемиологии и паразитологии. 1934; XVI(1-2):3–16.
89. Коробкова Е. И. *Живая противочумная вакцина: теория и практика иммунопрофилактики чумы*, М.: Медгиз, 1956, 207 с.
90. Коробкова Е. И. *К вопросу о терминологии диссоциантов Pasteurella pestis*. ЖМЭИ. 1962; 11:75–80.
91. Кособуров А. А. *Рецептурник Менцикана. Избранные рецепты тибетской медицины,* Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2005, 96 с.
92. Костюкова Т. А., Ляпин М. Н., и др. *Алгоритм ликвидации аварии при работе с патогенными биологическими агентами в боксах микробиологической безопасности*. Проблемы особо опасных инфекций. 2016; 4:102–104; DOI: 10.21055/0370-1069-2016-4-102-104.
93. Котенева Е. А., Котенев Е. С., и др. *Протеомное профилирование штаммов Yersinia pestis, циркулирующих на территории природных очагов чумы Северного Кавказа и Закавказья*. Журнал микробиологии. 2019; 4:18–25.
94. Котурга Л. Н., Пейсахис Л. А., и др. *Некоторые вопросы экспериментальной чумной инфекции у сайгаков*, в сборн. *Патологическая физиология особо опасных инфекций (Труды противочумных учреждений)*. Саратов: Всесоюзный ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», 1981, 184 с.
95. Кравченко А. Т., Соколов М. И. *Адсорбция специфических полисахаридов бактерий эритроцитами человека*. Журнал микробиологии. 1946; 12:10–16.
96. Красильникова Е. А., Трунякова А. С., и др. *Подбор новых молекулярных мишеней для оптимизации вакцинопрофилактики и терапии чумы*. Инфекция и иммунитет. 2021; 11(2):265–282; DOI: 10.15789/2220-7619-SNM-1254.
97. Кузнецов А. А., Матросов А. Н., и др. *Изменение границ природных очагов Волго-Уральского междуречья*. Проблемы особо опасных инфекций. 2017; 2:19–22; DOI: 10.21055/0370-1069-2017-2-19-22.
98. Кузнецов А. А., Поршаков А. М., и др. *Перспективы ГИС-паспортизации природных очагов чумы Российской Федерации*. Проблемы особо опасных инфекций. 2012; 1(111):48–53; DOI: 10.21055/0370-1069-2012-1(111)-48-53.
99. Кузнецов О. Ю. *Бактериальная колония как сложное сообщество клеток*. Вестник новых медицинских технологий. 2009; XVI(4):51–52.
100. Куклев Е. В., Сафронов В. А., и др. *Разработка компьютерной программы «Эпидемический потенциал природных очагов чумы в Российской Федерации»*. Проблемы особо опасных инфекций. 2014; 4:78–79; DOI: 10.21055/0370-1069-2014-4-78-79.
101. Куклева Л. М., Бойко А. В. *Активатор плазминогена – многофункциональный белок возбудителя чумы*. Проблемы особо опасных инфекций. 2016; 3:13–20; DOI: 10.21055/0370-1069-2016-3-13-20.
102. Куклева Л. М., Никифоров К. А., и др. *Молекулярно-генетические и фенотипические особенности штаммов возбудителя чумы, выделенных во Вьетнаме*. Проблемы особо опасных инфекций. 2017; 4:45–49; DOI: 10.21055/0370-1069-2017-4-45-49.
103. Куклева Л. М., Одиноков Г. Н., и др. *Сравнительный анализ питательных потребностей штаммов Yersinia pestis основного и неосновного подвидов и генетические причины их ауксотрофности*. Проблемы особо опасных инфекций. 2013; 2:33–36; DOI: 10.21055/0370-1069-2013-2-33-36.

104. Кутырев В. В., Попов Н. В., и др. *Чума на о. Мадагаскар*. Проблемы особо опасных ирнфекций. 2011; 108:5–11.
105. Кутырев В. В., Филиппов А. А., и др. *Изучение плазмидного состава донорного штамма возбудителя чумы*, в сборн. *Вопросы генетики, молекулярной биологии и микробиологии чумы и холеры (Труды противочумных учреждений)*. Саратов: Всесоюзный ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», 1985, 80 с.
106. *Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней. Практическое руководство: под ред. Академика РАМН Г. Г. Онищенко, академика РАМН В. В. Кутырева*, изд. 2-е, Москва: Изд. «Шико», 2013, 555 с.
107. Ларионов Г. М. *К эпизоотологической роли атипичных штаммов возбудителя чумы, выделяемых в Южном Прибалхашье и некоторых других частях Среднеазиатского пустынного очага*. Автореферат дис. … кандидата медицинских наук, Саратов, 1972, 25 с.
108. Ленская Г. Н., Степанов В. М., и др. *Наставление по основам лабораторной техники при работе с возбудителями особо опасных инфекций*. Алма-Ата: ТУДСМ, Всесоюзный Ордена Трудового Красного Знамени Научно-Исследовательский Противочумный Институт «Микроб», Среднеазиатский Научно-Исследовательский Противочумный Институт, 1975, 119 с.
109. Летаров А. В. *История ранних исследований бактериофагов и рождение основных концепций вирусологии*. Биохимия. 2020; 85(9):1189–1212; DOI: 10.31857/S0320972520090031.
110. Линников В. И., Линников С. В., и др. *Санарелли и Шварцман, историческая справка*. Акушерство, Гинекология и Репродукция. 2022; 16(3):324–327; DOI: 10.17749/2313-7349/ob.gyn.rep.2022.320.
111. Лобанов В. Н. *Патологическая анатомия и патогенез чумы у человека*, М.: Гос. изд. мед. лит. «Медгиз», 1956, 176 с.
112. Маркова Ю. А., Романенко А. С., и др. *Взаимодействие Yersinia pseudotuberculosis с пробирочными растениями картофеля*. J Sress Physiol Biochem. 2006; 2(1):21–27.
113. Макашова М. А., Оглодин Е. Г., и др. *Длительное сохранение Yersinia pestis в ассоциации с Acanthamoeba castellanii в эксперименте*. Проблемы особо опасных инфекций. 2022; 4:82–89; DOI: 10.21055/0370-1069-2022-4-82-89.
114. *Малоизвестные заразные болезни животных,* сост. Ф. М. Орлов, 2-е изд., перер. и доп.. Москва: Колос, 1973, 311 с.
115. Махачкеева Г. В. *О традициях народной медицины аларских бурят*. Монголоведение. 2022; 14(1):95–110; DOI: 10.22162/2500-1523-2022-1-95-110.
116. Мерекин Д. Н., Ломиворотов В. В., и др. *Синдром низкого сердечного выброса в кардиохирургии*, Альманах клинической медицины. 2019; 47(3):276–297; DOI: 10.18786/2072-0505-2019-47-035.
117. *Методические рекомендации «Организация и проведение эпидемиологического надзора в природных очагах чумы на территории государств – участников Содружества Независимых Государств»*, утв. Решением Совета по сотрудничеству в области здравоохранения Содружества независимых Государств от 8 – 9 ноября 2019 года (г. Душанбе, Таджикистан)
118. *Методические рекомендации по получению антигенного комплекса «фракция V» чумного микроба*. Протокол Ученого Совета ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт №2 от 17.12.2015
119. Миягашева С. Б. *Противоэпидемические традиции монгольских народов в борьбе с чумой*. Дальневосточный медицинский журнал. 2021; 3:82–85; DOI: 10.35177/1994-5191-2021-3-82-85.

120. Мнягашева С. Б. *Противоэпидемические традиции монгольских народов в борьбе с чумой*. Дальневосточный медицинский журнал. 2021; 3:82–85; DOI: 10.35177/1994-5191-2021-3-82-85.
121. *Монгольский лечебник Четуй нинпор*, Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2016, 252 с.
122. *Монгольский лечебник. Онцар-гадон-дэр-дзод, пер. А. А. Кособурова.*, 2-е изд., Улан-Удэ: Издательство Бурятского научного центра СО РАН, 2016, 194 с.
123. Музраева Д. Н., Сумба Р. П. *О ксилографическом сборнике буддийских текстов на монгольском языке из Национального музея Тувы*. Новые исследования Тувы. 2019; 2:139–150; DOI: 10.25178/nit.2019.2.12.
124. Назарова О. Д. *Экология серой крысы (Rattus norvegicus Berkenhout, 1769) в Гиссарской долине Центрального Таджикистана.* Автореферат дис. … кандидата биологических нак, Новосибирск, 2012, 21 с.
125. Никифоров К. А. *Научное обоснование и разработка комплексной системы молекулярно-генгтической дифференциации штаммов Yersinia pestis.* Дис. … доктора медицинских наук, Саратов, 2023, 354 с.
126. Никифоров К. А. *Штаммы Yersinia pestis линии 1.ORI как этиологический агент III пандемии чумы*. Проблемы особо опасных инфекций. 2022; 3:23–37; DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-23-37.
127. Никифоров К. А., Куклева Л. М., и др. *Филогенетический анализ штаммов Yersinia pestis улегейского подвида.* Генетика. 2020; 56(7):783–791; DOI: 10.31857/S0016675820060077.
128. Никифоров К. А., Оглодин Е. Г., и др. *Подвидовая дифференциация штаммов Yersinia pestis методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентным учётом результатов*. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2017; 2:22–27; DOI: 10.36233/0372-9311-2017-2-22-27.
129. Никифоров К. А., Оглодин Е. Г., и др. *Разработка комплексной системы молекулярно-генетической идентификации штаммов Yersinia pestis*. Проблемы особо опасных инфекций. 2023; 1:126–131; DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-126-131.
130. Николаев С. М., Фёдоров А. В., и др. *Желчегонное и гепатотропное влияние экстракта Hypecoum erectum в эксперименте*. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2014; 110(10):59–63.
131. Новосельцев Н. Н. *Умеренный фаг чумного микроба*. Автореферат дис. … доктора медицинских наук, Саратов, 1973, 44 с.
132. Носкова О. А., Загоскина Т. Ю., и др. *Применение ДОТ-иммуноанализа для выявления антигенов чумного микроба в полевом материале*. Проблемы особо опасных инфекций. 2014; 3:69–71.
133. Оглодин Е. Г., Ерошенко Г. А., и др. *Структурно-функциональный анализ криптических плазмид штаммов Yersinia pestis из двух природных очагов чумы России*. Проблемы особо опасных инфекций. 2015; 4:82–85; DOI: 10.21055/0370-1069-2015-4-82-85.
134. Одиноков Г. Н. *Генетический анализ биохимических особенностей штаммов Yersinia pestis основного и неосновного подвидов.* Дис. … кандидата биологических наук, Саратов, 2010, 157 с.
135. *«Онцар гадон дэр дзод» – тибетский медицинский трактат, пер. с тиб. Э. Г. Базарон, Ц. Ламжав, В. Н. Пупышева, предисл. Э. Г. Базарон, В. Н. Пупышева.* Новосибирск: Наука, Сиб. отд-ние, 1989, 161 с.
136. Орехов Р. А. *К вопросу о появлении чумы в Древнем Египте*. Локус: люди, общество, культуры, смыслы. 2022; 13(2):60–77; DOI: 10.31862/2500-2988-2022-13-2-60-77.

137. Орехов Р. А. *Роль первой эпидемии чумы в складывании древнеегипетской государственности*. Локус: люди, общество, культуры, смыслы. 2022; 13(4):67–84; DOI: 10.31862/2500-2988-2022-13-4-67-84.
138. *Памяти Анисимова Павла Ивановича*. Проблемы особо опасных инфекций. 2019; 3:126.
139. Пироговская М. М. *Ветлянская чума 1878–1879 гг.: санитарный дискурс, санитарные практики и (ре)формирование чувствительности*. Антропологический форум. 2012; 17:198–229.
140. Платонов М. Е., Вагайская А. С., и др. *Эффективность фаговых литических ферментов при получении бактериальных теней*. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2022; 40(3):26–31; DOI: 10.17116/molgen20224003126.
141. Платонов М. Е., Евсеева В. В., и др. *Внутривидовая принадлежность рамнозопозитивных штаммов Yersinia pestis из природных очагов чумы Монголии*. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2015; 1:23–28.
142. Платонов М. Е., Евсеева В. В., и др. *Молекулярное типирование Yersinia pestis*. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2013; 2:3–12.
143. Платонов М. Е., Евсеева В. В., и др. *Молекулярное типирование Yersinia pestis*. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2013; 2:3–12.
144. *Подвиг во имя жизни. 125 лет противочумным учреждениям России и СНГ, под ред. д-ра мед. наук, проф. А. Ю. Поповой, акад. РАН, д-ра мед. наук, проф. В. В. Кутырева,* Калининград: РА Полиграфычъ, 2022, 544 с.
145. Подладчикова О. Н. *Современные представления о молекулярных механизмах патогенеза чумы*. Проблемы особо опасных инфекций. 2017; 3:33–40; DOI: 10.21055/0370-1069-2017-3-33-40.
146. Покровская М. П. *Авирулентный мутант B. pestis (культура АМП)*. Вестник микробиологии, эпидемиологии и паразитологии. 1934; 13(1):3–17.
147. Покровская М. П. *Бактериофаг и его практическое применение для лечения и профилактики летних детских поносов, дизентерии и хирургических инфекций*. Пятигорск: Крайведиздат, 1940.
148. Попов А. А., Акимович В. В. *Производство бакпрепаратов для профилактики и диагностики особо опасных инфекций*. Саратов, 1966, С. 140–143.
149. Попов Н. В., Безсмертный В. Е., и др. *Влияние современного изменения климата на состояние природных очагов чумы России и других стран СНГ*. Проблемы особо опасных инфекций. 2013; 3:23–28.
150. Попов Н. В., Ерошенко Г. А., и др. *Эпидемиологическая и эпизоотическая обстановка по чуме в Российской Федерации и прогноз её развития на 2020–2025 гг.* Проблемы особо опасных инфекций. 2020; 1:43–50; DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-43-50.
151. Попов Н. В., Ерошенко Г. А., и др. *Эпидемиологическая ситуация по чуме в 2020 г. Прогноз эпизоотической активности природных очагов чумы Российской Федерации и других странах СНГ на 2021 г.* Проблемы особо опасных инфекций. 2021; 1:52–62; DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-52-62.
152. Попов Н. В., Куклев К. В., и др. *Ландшафтная приуроченность и биоценотическая структура природных очагов чумы дальнего зарубежья. Северная и Южная Америка, Африка, Азия.* Проблемы особо опасных инфекций. 2005; 89:9–15.
153. *Природные очаги чумы Кавказа, Прикаспия, Средней Азии и Сибири, под ред. Г. Г. Онищенко, В. В. Кутырева*. М.: ОАО «Издательство Московская Медицина», 2004, 192 с.
154. Ралль М. Ю. *Лекции по эпизоотологии чумы: под научной редакцией чл.-корр. АМН СССР проф. В. М. Жданова*. Ставрополь: Ставропольское книжное издательство,

Научно-Исследовательский Противочумный Институт Кавказа и Закавказья, 1958, 243 с.

155. Рапопорт Н. *То ли быль, то ли небыль: о времени и о себе,* М: Издательство «Феникс», 2004, 400 с.

156. *Реализация Международных медико-санитарных правил (2005 г.) на пространстве Восточной Европы и Центральной Азии: под ред. д-ра мед. наук, проф. А. Ю. Поповой, акад. РАН, д-ра мед. наук, проф. В. В. Кутырева.* Саратов: Амрит, 2019, 360 с.

157. Розанов Н. И. *Микробиологическая диагностика заболеваний сельскохозяйственных животных: Руководство для ветеринарных врачей диагностических лабораторий*, Москва: Государственное издательство сельскохозяйственной литературы, 1952, 508 с.

158. *Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Довоенный период и годы Великой Отечественной Войны. Исторические хроники: под ред. директора института А. К. Носкова,* Ростов-на-Дону: ООО «Мини Тайп», 2020, 104 с.

159. Руднев Г. П. *Клиника чумы, под ред. д-ра Ф. Р. Чушинского*, Ростовский государственный противочумный институт и кафедра инфекционных болезней Ростовского медицинского института, Ростов-на-Дону: Ростиздат, Тип. им. Коминтерна, 1938, 268 с.

160. Рудник М. П., Гриднева Л. Г. *Экспресс-диагностика возбудителя чумы с использованием реакции агглютинации латекса*, в сб. *Тезисы докладов региональной научно-практической конференции «Проблемы природно-очаговых и зоонозных инфекций в Сибири и на Дальнем Востоке» (16–17 сентября 1993 г.)*, Чита, 1993, 135 с.

161. Рыбакова А. В., Макарова М. Н., и др. *Существующие требования и подходы к дозированию лекарственных средств лабораторным животным*. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2018; 8(4):207–217; DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-4-207-217.

162. Рыженко С. А., Демиховская Е. В. *Кухня дьявола: вчера и сегодня.* Изд-во Промінь, 2003

163. Рыкова В. А. *Характеристика фактора аутоагглютинации возбудителя чумы*. Дис. … кандидата биологических наук. Ростов-на-Дону, 2010, 141 с.

164. Самойлович Д. С. *Избранные произведения.* Москва: Академия медицинских наук СССР. – Вып.1, 1949, 316 с.; Вып.2, 1952, 492 с.

165. *Санитарные правила и нормы СанПиН 3.3686–21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней»*, утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28 января 2021 года № 4.

166. Санчжей Чжамцо. *Практическое руководство по тибетской медицине Лхан-тхабс. Разделы га, нга и ча. Главы 15–47, пер. А. А. Кособурова ,* Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2000, 216 с.

167. Слудский А. А. *Эпизоотология чумы (обзор исследований и гипотез). Часть 2.* Саратов. 2014, 182 с.; депонировано в ВИНИТИ 11.08.2014 № 232-В2014.

168. Слудский А. А., Бойко А. В., и др. *Популяционный подход к определению границ и количества природных очагов чумы*. Поволжский экологический журнал. 2019; 4:493–502; DOI: 10.35885/1684-7318-2019-4-493-502.

169. Слудский А. А., Девдариани З. Л. *Рамнозопозитивные штаммы возбудителя чумы: вирулентность и эпидемиологическое значение*. Проблемы особо опасных инфекций. 2022; 3:38–44; DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-38-44.

170. Смирнова Е. Б., Аванян Л. А. *Содержание 2,3-дифосфоглицериновой кислоты в эритроцитах чувствительных и резистентных к чуме полуденных песчанок*, в сборн. *Патологическая физиология особо опасных инфекций (Труды противочумных учреждений)*. Саратов: Всесоюзный ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», 1981, 184 с.

171. Соколова Е. П., Демидова Г. В., и др. *Аффинитет различных форм липополисахаридов Yersinia pestis к LBP и рецептору CD14 моноцитов человека.* Национальные приоритеты России. 2014; 3(13):93–95.
172. Спицын А. Н., Уткин Д. В., и др. *MALDI-TOF масс-спектрометрический анализ штаммов возбудителя чумы*. Проблемы особо опасных инфекций. 2016; 2:91–94; DOI: 10.21055/0370-1069-2016-2-91-94.
173. *Справочник практического врача. В 2-х томах. Том I. Под общ. ред. В. Ф. Зеленина, Н. А. Куршакова, В. М. Чернова. Издание шестое, значительно исправленное и дополненное*, М.: Медгиз, 1952, 772 с.
174. Станишевская М. Б. *Патологическая анатомия костного мозга при чуме*, в сборн. *Чума и холера в Одессе в 1910 году: патолого-анатомическая часть*, Одесса: Изд. Одес. гор. обществ. упр., Тип. Л. Нитче, 1911, 220 с.
175. Сумати Праджня *«Купан-дудзи-ньингпо» – бурятский рецептурник тибетской медицины, пер. Д. Б. Дашиева*, Улан-Удэ, 1995.
176. Сунцов В. В. *Генезис трансмиссивной передачи микроба чумы Yersinia pestis: два подхода – молекулярно-генетический и экологический.* Проблемы особо опасных инфекций. 2018; 2:37–44; DOI: 10.21055/0370-1069-2018-2-37-44.
177. Сунцов В. В. *Перспективы синтеза молекулярно-генетического и экологического подходов к проблеме видообразования микроба чумы Yersinia pestis*. Успехи современной биологии. 2020; 140(1):43–57; DOI: 10.31857/S004-2132420010068.
178. Сунцов В. В. *Происхождение возбудителя чумы – микроба Yersinia pestis: концепция популяционно-генетической макроэволюции в переходной среде*. Журнал общей биологии. 2015; 76(1):324–332.
179. Сунцов В. В. *Происхождение и мировая экспансия возбудителя чумы Yersinia pestis: фактор изоляции*. Успехи современной биологии. 2014; 134(4):409–423.
180. Сунцов В. В. *Происхождение чумы. Перспективы эколого-молекулярно-генетического синтеза.* Вестник Российской академии наук. 2019; 89(3):260–269; DOI: 10.31857/S0869-5873893260-269.
181. Сунцов В. В. *Филогенез микроба чумы Yersinia pestis: уникальность эволюционной модели.* Вестник Российской академии наук. 2022; 92(9):860–868; DOI: 10.31857/S0869587322090092.
182. Сунцов В. В. *Экологический сценарий видообразования микроба чумы Yersinia pestis как основа адекватной молекулярной эволюционной модели*. Инфекция и иммунитет. 2022; 12(5):809–818; DOI: 10.15789/2220-7619-ESO-1955.
183. Сунцов В. В., Сунцова Н. И. *Чума. Происхождение и эволюция эпизоотической системы (экологические, географические и социальные аспекты),* М.: Изд-во КМК, 2006, 274.
184. Тараненко Т. М., Давальдянц С. М., и др. *Особенности структуры и функции основного соматического антигена чумного микроба.* Проблемы особо опасных инфекций. 2005; 89:51–54.
185. Ткаченко В. В. *О химической природе чумного гемолизина*, Дис. … кандидата медицинских наук. Ростов-на-Дону, 1964, 115 с.
186. Трухачёв А. Л., Коновалова Н. В., и др. *Выявление SNP-маркеров и конструирование набора реагентов для внутривидовой дифференциации штаммов Yersinia pestis в ПЦР с помощью аллель-специфических зондов*, в сборн. *Сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, под ред. В. П. Покровского, Т. 1.* Тамбов: ООО фирма «Юлис», 2017, 554 с.
187. Трухачёв А. Л., Копылов П. Х., и др. *Трансальдолаза – один из наиболее иммунологически активных компонентов препарата «фракция V» Yersinia pestis*, в сборн. *Сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, под ред. В. П. Покровского, Т. 1.* Тамбов: ООО фирма «Юлис», 2017, 544 с.

188. Трухачёв А. Л., Лебедева С. А., и др. *Особенности структуры генома штаммов возбудителя чумы из разных природных очагов, позволяющие проводить внутривидовую дифференциацию*. Инфекционные болезни: новости, мнения, обсуждение. 2019; 8(1):64–73; DOI: 10.24411/2305-3496-2019-11009.
189. Уланов М. С., Бадмаев В. Н. *Традиционная медицина калмыков: историко-культурологический анализ.* Новые исследования Тувы. 2018; 4:138–160; DOI: 10.25178/nit.2018.4.8.
190. Уралева В. С., Гулида М. М., и др. *Особенности методических приёмов при работе с возбудителями инфекционных болезней человека I и II группы патогенности бактериальной этиологии (практическое руководство).* Ростов-на-Дону: Шахтинское полиграфическое объединение Ростоблуприздата, Ростовский-на-Дону Государственный Ордена Трудового Красного Знамени Научно-Исследовательский Противочумный Институт, 1989, 208 с.
191. Уткин Д. В., Булгакова Е. Г., и др. *Исследование морфологических особенностей клеток бактерий Yersinia pestis, выращенных при различных температурных условиях, методом атомно-силовой микроскопии.* Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология. 2019; 19(1):87–93; DOI: 10.18500/1816-9775-2019-19-1-87-93.
192. Фёдоров Л. А. *Советское биологическое оружие: история, экология, политика*, М.: МСоЭС, 2005, 302 с.
193. Филиппов А. А., Эллиотт Дж. М., и др. *Определение нуклеотидной последовательности генома чумного диагностического бактериофага Л-413С.* Проблемы особо опасных инфекций. 2005; 90:49–52.
194. Фирстова В. В., Дятлов И. А., и др. *Иммунологические аспекты чумы.* Иммунология. 2016; 37(1):61–63; DOI: 10.18821/0206-4952-2016-37-1-61-63.
195. Фирстова В. В.,Караулов А. В., и др. *Современные направления разработок противочумных вакцин.* Иммунология. 2017; 38(1):100–107; DOI: 10.18821/0206-4952-2017-38-2-100-107.
196. Флегонтова А. А. *Экспериментальное изучение инфекционного потенциала некоторых видов блох, паразитирующих на сусликах и песчанках*. Труды ин-та «Микроб», Саратов. 1951; 1:192–205.
197. Франкл В. *Сказать жизни «Да!»: Психолог в концлагере*, пер. с нем., 9-е изд., М.: Альпина нонфикшн, 2023, 239 с.
198. Хапий Х. Х., Кассиль В. Л., и др. *Мониторинг гемодинамики критических состояний (острый респираторный дистресс-синдром, тяжёлый сепсис) и агрессивных методов респираторной поддержки: пособие для врачей,* Москва: ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского», 2014, 16 с.
199. Хрусцелевский В. П., Хрусцелевская Н. М. *О роли штаммов чумного микроба разной вирулентности в эпизоотии чумы*. Проблемы особо опасных инфекций. 1968; 4:186–193.
200. Ценева Г. Я., Солодовникова Н. Ю., и др. *Молекулярные аспекты вирулентности йерсиний.* Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2002; 3(4):248–266.
201. *Чума в Одессе: Историческое и эпидемиологическое исследование с приложением портретов, планов, чертежей и рисунков / Составили доктора медицины В. А. Белиловский и Н. Ф. Гамалея, по распоряжению Г. Одесского Градоначальника Ген.-Майора графа Шувалова*, Одесса: Типография Акционерного Южно-Русского Общества Печатного Дела, 1903, 215 с.
202. Чурикова Н. В., Семёненко Р. Д., и др. *Содержание Ca2+ в сыворотке и плазме крови полуденных песчанок с различной резистентностью к микробу чумы*, в сборн. *Мик-*

робиология и биохимия особо опасных инфекций (Труды противочумных учреждений). Саратов: Всесоюзный ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», 1988, 104 с.
203. Шер С. А., Островская А. В. *Выбор антибактериальных препаратов при беременности*. Педиатрическая фармакология. 2011; 8(1):84–89.
204. Шифрин М. *100 рассказов из истории медицины*. Москва: Альпина Паблишер, 2021, 696 с.
205. Щипелева И. А., Марковская Е. И. *Антибактериальная терапия чумы. Исторический срез и взгляд в будущее*. Антибиотики и химиотерапия. 2016; 61(9–10):74–80.
206. Ярыгина М. Б. *Молекулярно-генетическая структура Yersinia pestis в трансграничном Сайлюгемском природном очаге чумы*. Автореферат дис. … кандидата медицинских наук, Иркутск, 2023, 25 с.
207. *5th International reference preparation of opacity*, WHO International Standard, NIBSC code 76/522, Version 6.0 (2013), 2 p.
208. Abedon S. T., Thomas-Abedon C., et al. *Bacteriophage prehistory Is or is not Hankin, 1896, a phage reference?* Bacteriophage. 2011; 1(3):174–178; DOI: 10.4161/bact.1.3.16591.
209. Advier M. *Etude d'un bactériophage antipesteux*. Bull Soc Pathol Exotiques. 1933; 26:94–99.
210. Ahtman M., Morelli G., et al. *Microevolution and history of the plague bacillus, Yersinia pestis*. PNAS. 2004; 101(51):17837–17842; DOI: 10.1073/pnas.0408026101.
211. Ajl S. J., Reedal J. S., et al. *Studies on plague. I. Purification and properties of the toxin of Pasteurella pestis*. J Bacteriol. 1955;70(2):158–69; DOI: 10.1128/jb.70.2.158-169.1955.
212. Albrecht H. *Zur Geschichte der österreichischen Pestcommission*, in *Über die Beulenpest in Bombay im Jahre 1897*, im *„Besonderen Abdruck". Bd. I,* Wien: Hof- und Staatsdruckerei, 1898, S. I–XIII.
213. Alibek K., Handelman S. *Biohazard: the chilling true story of the largest covert Biological Weapons Program in the world - told from inside by the man who ran it*, Delta, 2000, 336 p.
214. Amelagos G. J. *Take two beers and call me in 1,600 years: ancient Nubians and Egyptians had a way with antibiotics*. Natural History. 2000; 109(4):50–53.
215. Andrianaivoarimanana V., Randriantseheno L. N., et al. *Potential human immunotherapeutics for plague*. Immunother Adv. 2021; 1(1):ltab020; DOI: 10.1093/immadv/ltab020.
216. Anisimov A. P, Dyatlov I. A. *A novel mechanism of antibiotic resistance in plague?* J Med Microbiol. 1997; 46(10):887–889; DOI: 10.1099/00222615-46-10-887.
217. Anisimov A. P., Lindler L. E., Gerald B. P. *Intraspecific diversity of Yersinia pestis*. Clin Microbiol Rev. 2004; 17:434–464; DOI: 10.1128/CMR.17.2.434-464.2004.
218. Arbaji A., Kharabsheh S., et al. *A 12-case outbreak of pharyngeal plague following the consumption of camel meat, in north-eastern Jordan*. Ann Trop Med Parasitol. 2005; 99(8):789–793; DOI: 10.1197/13648590X65161.
219. Arifin P. F., Suyatna F. D., et al. *Mucoactive effect evaluation and acute toxicity study of natural herbal combination of echinacea purpurea, sambucus nigra, glycyrrhiza glabra, vitex trifolia, and zingiber officinale*. Pharmacologyonline. 2020; 1:186–194.
220. Artzi P. *Some unrecognized Syrian Amarna Letters (EA 260, 317, 318)*. J Near East Stud. 1968; 27(3):163–171.
221. Ascoli A. *Die Präzipitindiagnose bei Milzbrand*. Centralbl Bakt Parasit Infeckt. 1911; 58:63–70.
222. Bach S., de Almeida A., et al. *Yersinia high-pathogenicity island is present in different members of the family Enterobacteriaceae*. FEMS Microliology Letters. 2000; 183(2):289–294; DOI: 10.1111/j.1574-6968.2000.tb08973.x.

223. Bacot A. W. *Further notes on the mechanism of the transmission of plague by fleas*. J Hygiene (Lond). 1915; 14:774–776.
224. Bacot A. W., Martin C. J. *LXVII. Observations on the mechanism of the transmission of plague by fleas*. J Hygiene (Lond). 1914; 13:423–439.
225. Bag A., Bhattacharyya S. K., et al. *The development of Terminalia chebula Retz. (Combretaceae) in clinical research*. Asian Pac J Trop Biomed. 2013; 3(3):244–252; DOI: 10.1016/S2221-1691(13)60059-3.
226. Bahmanyar M. *Human plague episode in the district of Khawlan, Yemen*. Am J Trop Med Hyg. 1972; 21(2):123–8; DOI: 10.4269/ajtmh.1972.21.123.
227. Bai Y., Rizzo M. R., et al. *A Novel Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay for Rapid Detection of Yersinia pestis*. Front Microbiol. 2022; 13:863142; DOI: 10.3389/fmicb.2022.863142.
228. Baker E. E., Sommer H., et al. *Studies on Immunization Against Plague: I. The Isolation and Characterization of the Soluble Antigen of Pasteurella Pestis*. J Immunol. 1952; 68(2):131–145; DOI: 10.4049/jimmunol.68.2.131.
229. Baker S., Hardy J., et al. *A novel linear plasmid mediates flagellar variation in Salmonella typhi*. PLoS Pathog. 2007; 3(5):e59; DOI: 10.1371/journal.ppat.0030059.
230. Banerjee S. K., Crane S. D., et al. *A dual role for the plasminogen activator protease during the preinflammatory phase of primary pneumonic plague*. J Infect Dis. 2020; 222(3):407–416.
231. Barbieri R., Texier G., et al. *Soil salinity and aridity specify plague foci in the United States of America*. Sci Rep. 2020; 10:6186; DOI: 10.1038/s41598-020-63211-4.
232. Bardell D. *An 1898 report by Gamaleya for a lytic agent specific for Bacillus anthracis*. J Hist Med Allied Sci. 1982; 37(2):222–225; DOI: 10.1093/jhmas/xxxvii.2.222.
233. Bartmańska A., Walecka-Zacharska E., et al. *Antimicrobial properties of spent hops extracts, flavonoids isolated therefrom, and their derivatives*. Molecules. 2018; 23(8):2059; DOI: 10.3390/molecules23082059.
234. Bartra S. S., Ding Y., et al. *Yersinia pestis uses the Ail outer membrane protein to recruit vitronectin*. Microbiology (Reading). 2015; 161(Pt 11):2174–2183; DOI: 10.1099/mic.0.000179.
235. Batiha G. El-S., Beshbishy A. M., et al. *Traditional uses, bioactive chemical constituents, and pharmacological and toxicological activities of Glycyrrhiza glabra L. (Fabaceae)*. Biomolecules. 2020; 10(3):352; DOI: 10.3390/biom10030352.
236. Bauer A. W., Kirby W. M. M., et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Pathol. 1966; 36:493–496.
237. Bechhold H. *Strukturbildung in Gallerten*. Zeitschrift für Physikalische Chemie. 1905; 52U(1):185–199; DOI: 10.1515/zpch-1905-5210.
238. Becker T. M., Poland J. D., et al. *Plague meningitis - a retrospective analysis of cases reported in the United States, 1970–1979*. West J Med. 1987; 147(5);554–557.
239. Behring E., Kitasato S. *Über das Zustandekommen der Diphtherie-Immunität und der Tetanus-Immunität bei Thieren*. Dtsch Med Wochenschrift. 1890; 49:1113–1114.
240. Ber R., Mamroud E., et al. *Development of an improved selective agar medium for isolation of Yersinia pestis*. Appl Environ Microbiol. 2003; 69(10):5787–5792; DOI: 10.1128/AEM.69.10.5787-5792.2003.
241. Bertherat E., Bekhoucha S., et al. *Plague Reappearance in Algeria after 50 Years, 2003*. Emerg Infect Dis. 2007; 13(10):1459–1462; DOI: 10.3201/eid1310.070284.
242. Bhat I. U. H., Bhat R. *Quercetin: a bioactive compound imparting cardiovascular and neuroprotective benefits: scope for exploring fresh produce, their wastes, and by-products*. Biology (Basel). 2021; 10(7): 586; DOI: 10.3390/biology10070586.
243. Bibel D. J., Chen T. H. *Diagnosis of Plague: an analysis of the Yersin-Kitasato controversy*. Bacteriological Reviews. 1976; 40(3):633–651.

244. Biggins D. E., Godbey J. L., et al. *Epizootic plague in prairie dogs: correlates and control with deltamethrin*. Vector Borne Zoonotic Dis. 2021; 21(3):172–178; DOI: 10.1089/vbz.2020.2684.
245. Bin Saeed A. A., Al-Hamdan N. A., et al. *Plague from eating raw camel liver*. Emerg Infect Dis. 2005; 11(9):1456–1457; DOI: 10.3201/eid1109.050081.
246. Bland D. M., Miarinjara A., et al. *Asquisition of yersinia murine toxin enabled Yersinia pestis to expand the range of mammalian hosts that sustain flea-borne plague*. PLoS Pathog. 2021; 17(10):e1009995; DOI: 10.1371/journal.ppat.1009995.
247. Bläsi U., Henrich B., et al. *Lysis of Escherichia coli by cloned phi X174 gene E depends on its expression*. J Gen Microbiol. 1985; 131(5):1107–1114; DOI: 10.1099/00221287-131-5-1107.
248. Bloch S., Lewandowska N., et al. *Bacteriophages as sources of small non-coding RNA molecules*. Plasmid. 2021; 113:102527; DOI: 10.1016/j.plasmid.2020.102527.
249. Bonczarowska J. H., Susat J., et al. *Ancient Yersinia pestis genomes lack the virulence-associated YpfΦ prophage present in modern pandemic strains*. Proc Biol Sci. 2023; 290(2003):20230622; DOI: 10.1098/rspb.2023.0622.
250. Bontemps-Gallo S., Fernandez M., et al. *Nutrient depletion may trigger the Yersinia pestis Omp-EnvZ regulatory system to promote flea-borne plague transmission*. Mol Microbiol. 2019; 112(5):1471–1482; DOI: 10.1111/mmi.14372.
251. Born F., Braun P., et al. *Specific Detection of Yersinia pestis Based on Receptor Binding Proteins of Phages*. Pathogens. 2020; 9(8):611; DOI: 10.3390/pathogens9080611.
252. Bos K. I., Herbig A., et al. *Eighteenth century Yersinia pestis genomes reveal the long-term persistence of an historical plague focus*. eLife. 2016; 5:e12994; DOI: 10.7554/eLife.12994.
253. Bosio C. F., Jarrett C. O., et al. *Comparison of the transmission efficiency and plague progression dynamics associated with two mechanisms by which fleas transmit Yersinia pestis*. PLoS Pathog. 2020; 16(12):e1009092; DOI: 10.1371/journal.ppat.1009092.
254. Bubeck S. S., Dube P. H. *Yersinia pestis CO92 delta yopH is a potent live, attenuated plague vaccine*. Clin Vaccine Immunol. 2007; 14(9):1235–1238; DOI: 10.1128/CVI.00137-07.
255. Burrows T. W., Bacon G. A. *V and Wantigens in strains of Pasteurella pseudotuberculosis*. Br J Exp Pathol. 1960; 41(1): 38–44.
256. Burrows T. W., Bacon G. A. *The basis of virulence in Pasteurella pestis: an antigen determining virulence*. Br J Exp Pathol. 1956; 37(5):481–493.
257. Burrows T. W., Bacon G. A. T*he effects of lost of different virulence determinants on the virulence and immunogenicity of strains of Pasteurella pestis*. Br J Exp Pathol. 1958; 39(3):278–291.
258. Butler M., Morel A.-S., et al. *Altered expression and endocytic function of CD205 in human dendritic cells, and selection of a CD205-DCL-1 fusion protein upon dendritic cell maturation*. Immunology. 2007; 120(3):362–371; DOI: 10.1111/j.1365-2567.2006.02512.x.
259. Butler T., Fu Y. S., et al. *Experimental Yersinia pestis infection in rodents after intragastric inoculation and ingestion of bacteria*. Infect Immun. 1982; 36(3):1160–1167; DOI: 10.1128/iai.36.3.1160-1167.1982.
260. Cabanel N., Leclercq A., et al. *Plague Outbreak in Libya, 2009, Unrelated to Plague in Algeria*. Emerg Infect Dis. 2013; 19(2):230–236; DOI: 10.3201/eid1902.121031.
261. Cameron M. E., Torkelson C., et al. *Tibetan medicine and integrative health: Validity testing and refinement of the constitutional self-assessment tool and lifestyle guidelines tool*. Explore. 2012; 8(3):158–171; DOI: 10.1016/j.explore.2012.02.002
262. *Canadian Biosafety Standard, Third Edition*. Public Health Agency of Canada (Cat.HP45–7/2022E-PDF), 2022, 166 p.

263. Cathelyn J. S., Crosby S. D., et al. *RovA, a global regulator of Yersinia pestis, specifically required for bubonic plague.* PNAS. 2006; 103(36):13514–13519; DOI: 10.1073/pnas.0603456103.
264. Caulfield A. J., Walker M. E. *The Pla protease of Yersinia pestis degrades Fas ligand to manipulate Host Cell Death and Inflammation.* Cell Host Microbe. 2014; 15(4):424–434; DOI: 10.1016/j.chom.2014.03.005.
265. Cavaillon J.-M. *André Boivin: A pioneer in endotoxin research and an amazing visionary during the birth of molecular biology*. Innate Immun. 2020; 26(3):165–171; DOI: 10.1177/1753425919842307.
266. Cavanaugh D. C., Quan S. F. *Rapid identification of Pasteurella pestis using specific bacteriophage lyophilized on strips of filter paper; a preliminary report*. Am J Clin Pathol. 1953; 23(6):619–620.
267. *CDC Bulletin*, Atlanta, Georgia: Communicable Disease Center, U.S. Public Health Service, Federal Security Agency, 1947 (Jan., Feb., Mar.), 69 p.
268. Chaaban T., Mohsen Y., et al. *Overview of Yersinia pestis metallophores; Yersiniabactin and Yersinopine.* Biology. 2023; 12(4):598; DOI: 10.3390/biology12040598.
269. Chain P. S. G., Carniel E., et al. *Insights into the evolution of Yersinia pestis through whole-genome comparison with Yersinia pseudotuberculosis*. PNAS. 2004; 101(38):13826–13831; DOI: 10.1073/pnas.0404012101.
270. Chain P. S. G., Hu P., et al. *Complete Genome Sequence of Yersinia pestis Strains Antiqua and Nepal516: Evidence of Gene Reduction in an Emerging Pathogen*. J Bacteriol. 2006; 188(12):4453–4463; DOI: 10.1128/JB.00124-06.
271. Chainumnim S., Saenkham A., et al. *Stem extract from Momordica cochinchinensis induces apoptosis in chemoresistant human prostate cancer cells (PC-3).* Molecules 2022; 27(4):1313; DOI: 10.3390/molecules27041313.
272. Chapman D. A., Zavialov A. V., et al. *Structural and functional significance of the FGL sequence of the periplasmic chaperone Caf1M of Yersinia pestis*. J Bacteriol. 1999; 181(8):2422–2429; DOI: 10.1128/JB.181.8.2422-2429.1999.
273. Chien A., Edgar D. B., et al. *Deoxyribonucleic acid polymerase from the extreme thermophile Thermus aquaticus*. J Bacteriol. 1976; 127(3):1550–1557; DOI: 10.1128/jb.127.3.1550-1557.1976.
274. Christie A. B., Chen T. H., et al. *Plague in camels and goats: their role in human epidemics.* J Infect Dis. 1980; 141(6):724–726; DOI: 10.1093/infdis/141.6.724.
275. *Committee for the Pharmacopoeia of PR China, Pharmacopoeia of the People's Republic of China*, China Medical Science and Technology Press, Beijing, China, 1977.
276. Consden R., Gordon A. H., et al. *Qualitative analysis of proteins: a partition chromatographic method using paper*. Biochem J. 1944; 38(3):224–232; DOI: 10.1042/bj0380224.
277. Cooley K. C., Fleck-Derderian S., et al. *Plague meningitis: a systematic review of clinical course, antimicrobial treatment, and outcomes.* Health Secur. 2023; 21(1):22–33; DOI: 10.1089/hs.2022.0081.
278. Coons A. H., Kaplan M. H. *Localization of antigen in tissue cells; improvements in a method for the detection of antigen by means of fluorescent antibody*. J Exp Med. 1950; 91(1):1–13; DOI: 10.1084/jem.91.1.1.
279. Cornelius C. A., Quenee L. E., et al. *Immunization with recombinant V10 protects cynomolgus macaques from lethal pneumonic plague.* 2008; 76(12):5588–5597; DOI: 10.1128/IAI.00699-08.
280. Cote C. K., Blanco I. I., et al. *Combinations of early generation antibiotics and antimicrobial peptides are effective against a broad spectrum of bacterial biothreat agents*. Microb Pathog. 2020; 142:104050; DOI: 10.1016/j.micpath.2020.104050.
281. Cowan S. T. *Classification of staphylococci by slide agglutination*. J Pat Bacteriol. 1938; 48(1):169–173; DOI: 10.1002/path.1700480117.

282. Cui Y., Yu C., et al. *Historical variations in mutation rate in an epidemic pathogen, Yersinia pestis*. PNAS. 2013; 110(2):577–582; DOI: 10.1073/pnas.1205750110.
283. D'Herelle F. *Essai de traitement de la peste bubonique par le bacteriophage*. Press. Med. 1925; 33:1393–1394.
284. Dai R., He J., et al. *A novel mechanism of streptomycin resistance in Yersinia pestis: Mutation in the rpsL gene*. PLoS Negl Trop Dis. 2021; 15(4):e0009324; DOI: 10.1371/journal.pntd.0009324.
285. Dai R., Wei B., et al. *Human plague associated with Tibetan sheep originates in marmots,* PLoS Negl Trop Dis. 2018; 12(8):e0006635; DOI: 10.1371/journal.pntd.0006635.
286. Daly J. A., Gooch W. M., et al. *Evaluation of the Wayson variation of a methylene blue staining procedure for the detection of microorganisms in cerebrospinal fluid*. J Clin Microbiol. 1985; 21(6):919–921.
287. Davies D. A. L. *A specific polysaccharide of Pasteurella pestis*. J Biochem. 1956; 63:105–116.
288. De Chaliac G. *Chirurgia magna (Inventarium sive chirugia magna)*, Leiden, New York: E. J. Brill, 1997.
289. De La Martinière A.A.B. *Le grand dictionnaire géographique et critique*, t. IX, à La Haye chez Pierre de Hondy; 1739, 106–107 p.
290. Déméttius Cydonès. *Correspondance*. Publ. par R.-J. Loenertz. Studi e testi, 208. Cittä del Vaticano, 1960. Vol.2.
291. Demeure Ch. E., Dussurget O., et al. *Yersinia pestis and plague: an updated view on evolution, virulence determinants, immune subversion, vaccination, and diagnostics*. Genes & Immunity. 2019; 20:357–370; DOI: 10.1038/s41435-019-0065-0.
292. Deng W., Burland V., et al. *Genome Sequence of Yersinia pestis KIM*. J Bacteriol. 2002; 184(16):4601–4611; DOI: 10.1128/JB.184.16.4601-4611.2002.
293. Dennis D. T., Gage K. L., et al. *Plague manual: epidemiology, distribution, surveillance and control*, World Health Organization, WHO/CDS/CSR/EDC/99.2, 1999, 172 p.
294. Dentovskaya S. V., Vagaiskaya A. S., et al. *Peptidoglycan-Free Bacterial Ghosts Confer Enhanced Protection against Yersinia pestis Infection*. Vaccines (Basel). 2021; 10(1):51; DOI: 10.3390/vaccines10010051.
295. Derbice A., Hanada Y., et al. *Complete protection against pneumonic and bubonic plague after a single oral vaccination*. PLoS Negl Trop Dis. 2015; 9(10):e0004162.
296. Derbicse A., Cerdà A., et al. *An encapsulated Yersinia pseudotuberculosis is a highly efficient vaccine against pneumonic plague*. PLoS Negl Trop Dis. 2012; 6(2):e1528; DOI: 10.1371/journal.pntd.0001528
297. Derbise A., Carniel E. *YpfΦ: a filamentous phage acquired by Yersinia pestis*. Front Microbiol. 2014; 5; DOI: 10.3389/fmicb.2014.00701
298. Derbise A., Chenal-Francisque V., et al. *A horizontally acquired filamentous phage contributes to the pathogenicity of the plague bacillus*. Molecular Microbiology. 2006; 63(4):1145–1157; DOI: 10.1111/j.1365-2958.2008.05570.x.
299. Derbise A., Pierre F., et al. *Inheritance of the lysozyme inhibitor Ivy was an important evolutionary step by Yersinia pestis to avoid the host innate immune response*. J Infect Dis. 2013; 207(10):1535–1543; DOI: 10.1093/infdis/jit057.
300. Devignat R. *Variétés de l'espéce Pasteurella pestis. Nouvelle hypothése*. Bull. Org. mond. Santé (Bull.World Hlth Org.). 1951; 4(2):247—263.
301. D'Hérelles F. *Sur un microbe invisible antagoniste des bacilles dysentériques*. Comptes Rendus Academie des Sciences Paris. 1917; 165:373–375.
302. Dong X. Q., Lindler L. E., et al. *Complete DNA sequence and analysis of an emerging cryptic plasmid isolated from Yersinia pestis*. Plasmid. 2000; 43(2):144–148; DOI: 10.1006/plas.1999.1432.

303. Drennan J. G., Teague O. *A selective medium for the Isolation of B. Pestis from contaminated Plague Lesions and observations on the growth of B. Pestis on Autoclaved Nutrient Agar*. J Med Res. 1917; 36(3):519–532.
304. Du Y., Rosqvist R., et al. *Role of Fraction 1 antigen of Yersinia pestis in inhibition of phagocytosis*. Infect Immun. 2002; 70(3):1453–1460; DOI: 10.1128/IAI.70.3.1453-1460.2002.
305. Dudte S. C., Hinnebusch B. J., et al. *Characterization of Yersinia pestis interaction with human neutrophils in vitro*. Front Cell Infect Microniol. 2017; 7:358; DOI: 10.3389/fcimb.2017.00358.
306. Dziarski R. *Deadly plague versus mild-mannered TLR4*. Nat Immun. 2006; 7:1017–1019; DOI: 10.1038/ni1006-1017.
307. Eaton K., Featherstone L., et al *Plagued by a cryptic clock: insight and issues from the global phylogeny of Yersinia pestis*. Commun Biol. 2023; 6:23; DOI: 10.1038/s42003-022-04394-6.
308. Edmunds D. R., Williams E. S., et al. *Ocular plague (Yersinia pestis) in mule deer (Odocoileus hemionus) from Wyoming and Oregon*. J Wild Dis. 2008; 44(4):983–987; DOI: 10.7589/0090-3558-44.4.983.
309. Eichelberger K. R., Jones G. S., et al. *Inhibition of neutrophil primary granule release during Yersinia pestis pulmonary infection*. mBio. 2019; 10(6):e02759–19; DOI: 10.1128/mBio.02759-19.
310. Eidson M., Tierney L. A., et al. *Feline plague in New Mexico: risk factors and transmission to humans*. American Journal of Public Health. 1988; 78(10):1333–1335.
311. Eisen R. J., Gage K. L. *Adaptive strategies of Yersinia pestis to persist during inter-epizootic and epizootic periods*. Vet Res. 2009; 40(2):01; DOI: 10.1051/vetres:2008039.
312. Encyclopedia of Public Health. Editor by Professor Dr. Dr. Wilhelm Kirch, Leipzig: Springer Science+Business Media, LLC, 2008, 1600 p.
313. Eppinger M., Radnedge L., et al. *Novel plasmids and resistance phenotypes in Yersinia pestis: unique plasmid inventory of strain Java 9 mediates high levels of arsenic resistance*. PLoS ONE. 2012; 7(3):e32911; DOI: 10.1371/journal.pone.0032911.
314. Eppinger M., Worsham P. L., et al. *Genome Sequence of the Deep-Rooted Yersinia pestis Strain Angola Reveals New Insights into the Evolution and Pangenome of the Plague Bacterium*. J Bacteriol. 2010; 192(6):1685–1699; DOI: 10.1128/JB.01518-09.
315. Esmaeili S., Esmaeili P., et al. *Serological evidence of Yersinia pestis infection in rodents and carnivores in Northwestern Iran*. PLoS Negl Trop Dis. 2023; 17(1):e0011021; DOI: 10.1371/journal.pntd.0011021.
316. Esmaeili S., Mahmoudi A., et al. The surveillance of plague among rodents and dogs in Western Iran. PLoS Negl Trop Dis. 2023; 17(11):e0011722; DOI: 10.1371/journal.pntd.0011722.
317. Evans C. *Pneumonic plague: incidence, transmissibility and future risks*. Hygiene. 2022; 2(1):14–27; DOI: 10.3390/hygiene2010002.
318. Feeley E. J., Kriz J. J. *Plague Meningitis in an American Serviceman*. JAMA. 1965; 191(5):412–413; DOI:10.1001/jama.1965.03080050058021.
319. Feng B., Shi L., et al. *Effective discrimination of Yersinia pestis and Yersinia pseudotuberculosis by MALDI-TOF MS using multivariate analysis*. Talanta. 2021; 234:122640; DOI: 10.1016/j.talanta.2021.122640.
320. Feng N., Zhou Y., et al. *Yersinia pestis detection by loop-mediated isothermal amplification combined with magnetic bead capture of DNA*. Braz J Microbiol. 2018; 49(1):128–137; DOI: 10.1016/j.bjm.2017.03.014.
321. Fields K. A., Straley S. C. *LcrV of Yersinia pestis enters infected eukaryotic cells by a virulence plasmid-independent mechanism*. Infect Immunol. 1999; 67(9):4801–4813; DOI: 10.1128/iai.67.9.4801-4813.1999.

322. Filippov A. A., Sergueev K. V., et al. *Bacteriophage therapy of experimental bubonic plague in mice*. Adv Exp Med Biol. 2012; 954:337–348; DOI: 10.1007/978-1-4614-3561-7_41.
323. Filippov A. A., Solodovnicov N. S., et al. *Plasmid content in Yersinia pestis strains of different origin*. FEMS Microbiol Lett. 1990; 55(1-2):45–48; DOI: 10.1016/0378-1097(90)90165-m.
324. Flamm H. *Die österreichische Pestkommission in Bombay 1897 und die letzten Pest-Todesfälle in Wien 1898*. Wiener Medizinische Wochenschrift. 2018; 168(9):375–383; DOI: 10.1007/s10354-018-0653-z.
325. Fleming A. *On the antibacterial action of cultures of a Penicillium, with special reference to their use in the isolation of B. influenzæ*. Br J Exp Pathol. 1929; 10(3):226–236; Bulletin of the World Health Organization. 2001; 79(8): 780–790.
326. Frampton E. W., Restaino L., et al. *Evaluation of the β-Glucuronidase Substrate 5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl-β-D-Glucuronide (X-GLUC) in a 24-Hour Direct Plating Method for Escherichia coli*. J Food Prot. 1988; 51(5):402–404; DOI: 10.4315/0362-028X-51.5.402.
327. Frank K. M., Schneewind O., et al. *Investigation of a researcher's death due to septicemic plague*. N Engl J Med. 2011; 364(26):2563–2564; DOI: 10.1056/NEJMc1010939.
328. Frankland P. *Ueber das Verhalten des Typhusbacillus und des Bacillus coli communis im Trinkwasser*. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten 1895; 19(1):393–407; DOI: 10.1007/bf02216789.
329. Franklin R. E., Gosling R. G. Molecular configuration in sodium thymonucleate. Nature . 1953; 171(4356):740–741; DOI: 10.1038/171740a0.
330. French R. *Canonical medicine: Gentile da Foligno and scholasticism*, Leiden, Boston: E.J. Brill, 2001.
331. Galván E. M., Chen H., et al. *The Psa fimbriae of Yersinia pestis interact with phosphatidylcholine on alveolar epithelial cells and pulmonary surfactant*. Infect Immun. 2007; 75(3):1272–1279; DOI: 10.1128/IAI.01153-06.
332. Galyov E. E., Karlishev A. V., et al. *Expression of the envelope antigen F1 of Yersinia pestis is mediated by the product of caf1M gene having homology with the chaperone protein PapD of Escherichia coli*. FEBS Lett. 1991; 286(1–2):79–82; DOI: 10.1016/0014-5793(91)80945-y.
333. Galyov E. E., Smirnov O. Yu., et al. Nucleotide sequence of the Yersinia pestis gene encoding F1 antigen and the primary structure of the protein. Putative T and B cell epitopes. FEBS Lett. 1990; 277(1–2):230–232; DOI: 10.1016/0014-5793(90)80852-a.
334. Gan Z., Jiang J., et al. *Traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and toxicology of Pterocephalus hookeri (C. B. Clarke) Höeck: a review*. RSC Adv. 2021; 11(46):28761–28774; DOI: 10.1039/d1ra05548h.
335. Ge P., Xi J., et al. *Primary case of human pneumonic plague occurring in a Himalayan marmot natural focus area Gansu Province, China*. Int J Infect Dis. 2015; 33:67–70; DOI: 10.1016/j.ijid.2014.12.044.
336. Golubov A., Neubauer H., et al. *Structural organization of the pFra virulence-associated plasmid of rhamnose-positive Yersinia pestis*. Infect Immun. 2004; 72(10):5613–5621; DOI: 10.1128/IAI.72.10.5613-5621.2004.
337. Gordon D. H., Isaacson M., et al. *Plague antibody in large African mammals*. Infect Immun. 1979; 26(2):767–769; DOI: 10.1128/iai.26.2.767-769.1979.
338. Grabowsky B., Schmidt M. A., et al. *Immunomodulatory Yersinia outer proteins (Yops) – useful tools for bacteria and human alike*. Virulence. 2017; 8(7):1124–1147; DOI: 10.1080/21505594.2017.1303588.
339. Gram H. C. *Über die isolierte Färbing der Schizomyceten in Schnitt- und Trockenpräparaten*. Fortschritte der Medizin. 1884; 2:185–189.

340. Gratia J.-P. *André Gratia: a forerunner in microbial and viral genetics*. Genetics. 2000; 156(2):471–476; DOI: 10.1093/genetics/156.2.471.
341. Gregersen T. *Rapid method for distinction of gram-negative from gram-positive bacteria*. Eur J Appl Microbiol Biotechnol. 1978; 5:123–127.
342. Guinet F., Avé P., et al. *Defective innate cell response and lymph node infiltration specify Yersinia pestis infection*. PLoS ONE. 2008; 3(2):e1688; DOI: 10.1371/journal.pone.0001688.
343. Guinet F., Avé P., et al. *Dissociation of tissue destruction and bacterial expansion during bubonic plague*. PLoS Pathog. 2015; 11(10):e1005222; DOI: 10.1371/journal.ppat.1005222.
344. Gunnison J. B., Larson A., et al. *Rapid differentiation between Pasteurella pestis and Pasteurella pseudotuberculosis by action of bacteriophage*. J Infect Dis. 1951; 88(3):254–255; DOI: 10.1093/infdis/88.3.254.
345. Gupta A., Kumar R., et al. *Terminalia bellirica (Gaertn.) roxb. (Bahera) in health and disease: A systematic and comprehensive review*. Phytomedicine. 2020; 77:153278; DOI: 10.1016/j.phymed.2020.153278.
346. Gur D., Chitlaru T., et al. *Screening of an FDA-approved library of novel drugs against Y. pestis*. Antibiotics (Basel). 2021; 10(1):40; DOI: 10.3390/antibiotics10010040
347. Habicht M. E., Eppenberger P. E., et al. *A critical assessment of proposed outbreaks of plague and other epidemic diseases in Ancient Egypt*. Int J Infect Dis. 2021; 103:217–219; DOI: 10.1016/j.ijid.2020.11.160.
348. Haiko J., Laakkonen L., et al. *The Omptins of Yersinia pestis and Salmonella enterica Cleave the Reactive Center Loop of Plasminogen Activator Inhibitor 1*. J Bacteriol. 2010; 192(18):4553–4561; DOI: 10.1128/JB.00458-10.
349. Hallanvuo S., Peltola J., et al. *Simplified Phenotypic Scheme Evaluated by 16S rRNA Sequencing for Differentiation between Yersinia enterocolitica and Y. enterocolitica-Like species*. J Clin Microbiol. 2006; 44(3):1077–1080; DOI: 10.1128/JCM.44.3.1077-1080.2006.
350. Hama H. O., Aboudharam G., et al. *Immunohistochemical diagnosis of human infectious diseases: a review*. Diagn Pathol. 2022; 17(1):17; DOI: 10.1186/s13000-022-01197-5.
351. Hankins J. V., Madsen J. A., et al. *Elucidation of a novel Vibrio cholerae lipid A secondary hydroxy-acyltransferase and its role in innate immune recognition*. Mol Microbiol. 2011; 81(5):1313–1329; DOI: 10.1111/j.1365-2958.2011.07765.x.
352. Hau D., Wade B., et al. *Development of a dual antigen lateral flow immunoassay for detecting Yersinia pestis*. PLoS Negl Trop Dis. 2022; 16(3):e0010287; DOI: 10.1371/journal.pntd.0010287.
353. Hawkes R., Niday E. *A dot-immunobinding assay for monoclonal and other antibodies*. Anal Biochem. 1982; 119(1):142–147; DOI: 10.1016/0003-2697(82)90677-7.
354. Hertman I. *Bacteriophage common to Pasteurella pestis and Escherichia coli*. J Bacteriol. 1964; 88:1002–1005; DOI: 10.1128/jb.88.4.1002-1005.1964.
355. Herzog M., Hare C.B. *Latent and ambulatory plague*. JAMA. 1904; XLIII (24):1781–1788; DOI: 10.1001/jama.1904.92500240002k.
356. Hinnebusch B. J., Bland D. M. *Comparative Ability of Oropsylla montana and Xenopsylla cheopis Fleas to Transmit Yersinia pestis by Two Different Mechanisms*. PLOS Negl Trop Dis. 2017; 11(1):e0005276; DOI: 10.1371/journal.pntd.0005276 (correction: 2020; 14(5):e0008344; DOI: 10.1371/journal.pntd.0008344).
357. Hinnebusch B. J., Erickson D. L. *Yersinia pestis biofilm in the flea vector and its role in the transmission of plague*. Curr Top Microbiol Immunol. 2008; 322:229–248; DOI: 10.1007/978-3-540-75418-3_11.
358. Hinnebusch B. J., Jarrett C. O., et al. *Role of the Yersinia pestis Ail protein in preventing a protective polymorphonuclear leukocyte response during bubonic plague*. Infect Immun. 2011; 79(12):4984–4989; DOI: 10.1128/IAI.05307-11.

359. Hinnebusch B. J., Rosso M.-L., et al. *High-frequency conjugative transfer of antibiotic resistance genes to Yersinia pestis in the flea midgut*. Mol Microbiol. 2002; 46(2):349 354; DOI: 10.1046/j.1365-2958.2002.03159.x.
360. Houhamdi L., Lepidi H., et al. *Experimental model to evaluate the human body louse as a vector of plague*. J Infect Dis. 2006; 194(11):1589–1596; DOI: 10.1086/508995.
361. Hsu H.-L., Chuang C.-C., et al. Rapid and sensitive detection of Yersinia pestis by lateral-flow assay in simulated clinical samples. BMC Infect Dis. 2018; 18:402; DOI: 10.1186/s12879-018-3315-2.
362. Huang X.-Z., Lindler L. E. *The pH6 antigen is an antiphagocytic factor produced by Yersinia pestis independent of Yersinia outer proteins and capsule antigen*. Infect Immun. 2004; 72(12):7212–7219; DOI: 10.1128/IAI.72.12.7212-7219.2004.
363. Hudson M. J., Bausch I. R., et al. *Bronze age globalization and Eurasian impacts on later Jōmon change*. J World Prehist. 2021; 34:121–158; DOI: 10.1007/s10963-021-09156-6.
364. Hull H. F., Montes J. M. *Plague masquerading as gastrointestinal illness*. West J Med. 1986; 145(4):485–487.
365. *Indian Plague Research Commission. Further observations on the transmission of plague by fleas, with special reference to the fate of the plague bacillus in the body of the rat flea (P. cheopis)*. J Hygiene (Lond). 1907; 7:395–420.
366. *Interregional meeting on prevention and control of plague*, Antananarivo, Madagascar 1–11 April 2006 (Geneva: World Health Organization; 2006).
367. Interregional meeting on prevention and control of plague, Antananarivo, Madagascar 1–11 April 2006 (Geneva: World Health Organization; 2006).
368. Iqbal S. M., Hussain L., et al. *Nephroprotective Potential of a Standardized Extract of Bambusa arundinacea: In Vitro and In Vivo Studies*. ACS Omega. 2022; 7(21):18159–18167; DOI: 10.1021/acsomega.2c02047.
369. Jackson S., Burrows T.W. *The virulence-enhancing effect of iron on non-pigmented mutants of virulent strains of Pasteurella pestis*. Br J Exp Pathol. 1956; 37(6):577–583.
370. Jarrett C. O., Deak E., et al. *Transmission of Yersinia pestis from an infectious biofilm in the flea vector*. The Journal of Infectious Diseases. 2004; 190(4):782–792; DOI: 10.1086/422695.
371. Jawetz E., Meyer K. F. *Studies on plague immunity in experimental animals. II. Some factors of the immunity mechanism in bubonic plague*. J Immun. 1944; 49(1):15–30.
372. Jessup D. A., Murphy Ch. J., et al. *Ocular lesions of plague (Yersinia pestis) in a black-tailed deer (Odocoileus hemionus columbianus)*. Journal of Zoo and Wildlife Medicine. 1989; 20(3):360–363.
373. Jiao Y., Cao S., et al. *Yersinia pestis-induced mitophagy that balances mitochondrial homeostasis and mROS-mediated bacterial activity*. Microbiol Spectr. 2022; 10(3):e00718–22; DOI: 10.1128/spectrum.00718-22.
374. Johnson T. L., Hinnebusch B. J., et al. *Yersinia murine toxin is not required for early-phase transmission of Yersinia pestis by Oropsylla montana (Siphonaptera: Ceratophyllidae) or Xenopsylla cheopis (Siphonaptera: Pulicidae)*. Microbiology (Reading). 2014; 160(Pt 11):2517–2525; DOI: 10.1099/mic.0.082123-0.
375. Jullien S., de Silva N. L., et al. *Plague Transmission from Corpses and Carcasses*. Emerg Infect Dis. 2021; 27(8):2033–2041; DOI: 10.3201/eid2708.200136.
376. Karlyshev A. V., Galyov E. E., et al. *A new gene of the f1 operon of Y. pestis involved in the capsule biogenesis*. FEBS Lett. 1992; 297(1-2):77–80; DOI: 10.1016/0014-5793(92)80331-a
377. Karlyshev A. V., Galyov E. E., et al. *Caf1R gene and its role in the regulation of capsule formation of Y. pestis*. FEBS Lett. 1992; 305(1):37–40; DOI: 10.1016/0014-5793(92)80650-6

378. Kaufmann S. H. E *Remembering Emil von Behring: from Tetanus Treatment to Antibody Cooperation with Phagocytes*. mBio. 2017; 8(1):e00117–17; DOI: 10.1128/mBio.00117-17
379. Kawahara K., Tsukano H., et al. *Modification of the structure and activity of Lipid A in Yersinia pestis lipopolysaccharide by growth temperature*. Infect Immun. 2002; 70(8):4092–4098; DOI: 10.1128/IAI.70.8.4092-4098.2002.
380. Kehrmann J., Popp W., et al. *Two fatal cases of plague after consumption of raw marmot organs*. Emerg Microbes Infect. 2020; 9(1):1878–1880; DOI: 10.1080/22221751.2020.1807412.
381. Khan R. L. *A simple quantitative precipitation reaction for syphilis*. Arch Derm Syphilol. 1922; 5(5):570–578; DOI: 10.1001/archderm.1922.02350300011003.
382. Khweek A. A., Fetherston J. D., et al. *Analysis of HmsH and its role in plague biofilm formation*. Microbiology (Reading). 2010; 156 (Pt 5):1424–1438; DOI: 10.1099/mic.0.036640-0.
383. Kislichkina A. A., Mazurina E. M., et al. *Complete genome assembly of yersinia pestis subsp. pestis bv. Medievalis SCPM-O-B-6530, a proline-dependent strain isolated from the Central-Caucasian High-Mountain Plague Focus in Kabardino-Balkar Republic (Russia)*. Microbiol Resour Announc. 2022; 11(1):e01115-21; DOI: 10.1128/mra.01115-21
384. Kislichkina A. A., Kadnikova L. A., et al. *Differentiation of Yersinia pseudotuberculosis, Yersinia pestis subsp. pestis and subsp. microti strains and other representatives of Yersinia pseudotuberculosis complex*. Molecular Genetics, Microbiology and Virology. 2017; 32(2):67–74; DOI: 10.3103/S0891416817020070.
385. Kitasato S. *Fighting plague in Japan*. Reprinted from the New York Medical Journal for July 7, 19, A.R. Elliot Publishing Co, 1906, 29 p.
386. Kitasato S. *The bacillus of bubonic plague (preliminary notice)*. The Lancet. 1894 (July 7); 1:428–430.
387. Kleppe K., Ohtsuka E. Studies on polynucleotides. XCVI. Repair replications of short synthetic DNA's as catalyzed by DNA polymerases. J Mol Biol. 1971; 56(2):341–361; DOI: 10.1016/0022-2836(71)90469-4.
388. Knirel Y. A., Anisimov A. P. *Lipopolysaccharide of Yersinia pestis, the cause of plage: structure, genetics, biological properties*. Acta Naturae. 2012; 4(3):46–58.
389. Knirel Y. A., Anisimov A. P., et al. *Lipopolysaccharide of the Yersinia pseudotuberculosis Complex*. Biomolecules. 2021; 11(10):1410; DOI: 10.3390/biom11101410.
390. Kolle W. *Zur Bacteriologie der Beulenpest*. Dtsch Med Wochenschr. 1897; 23(10):146–148; DOI: 10.1055/s-0029-1204897.
391. Kolodziejek A. M., Hovde C. J., et al. *Yersinia pestis Ail: multiple roles of a single protein*. Front Cell Infect Microbiol. 2012; 2:103; DOI: 10.3389/fcimb.2012.00103.
392. Kopylov P. Kh., Platonov M. E., et al. *Yersinia pestis Caf1 protein: effect of sequence polymorphism on intrinsic disorder propensity, serological cross-reactivity and cross-protectivity of isoforms*. PLoS ONE. 2016; 11(9):e0162308; DOI: 10.1371/journal.pone.0162308.
393. Korhonen T. K. *Fibrinolytic and procoagulant activities of Yersinia pestis and Salmonella enterica*. J Thromb Haemost. 2015; 13 Suppl 1:S115–120; DOI: 10.1111/jth.12932.
394. Korhonen T. K., Haiko J., et al. *Fibrinolytic and coagulative activities of Yersinia pestis*. Front CellInfect Microbiol. 2013; 3:35; DOI: 10.3389/fcimb.2013.00035.
395. Kosoy M., Biggins D. *Plague and trace metals in natural systems*. Int J Environ Res Public Health. 2022; 19(16):9979; DOI: 10.3390/ijerph19169979.
396. Koul B., Kumar A., et al. *Bergenia genus: traditional uses, phytochemistry and pharmacology*. Molecules. 2020; 25(23):5555; DOI: 10.3390/molecules25235555.
397. Kuang Y., Li B., et al. *Antitussive and expectorant activities of licorice and its major compounds*. Bioorg Med Chem. 2018; 26(1):278–284; DOI: 10.1016/j.bmc.2017.11.046.

398. Kulescha S. G. *Beitrag Beitrag zur pathologischen Anatomie der Lungenpest*. Virchows Archiv Für Pathologische Anatomie Und Physiologie Und Für Klinische Medizin. 1925; 254(1):174–183; DOI:10.1007/bf02112658.
399. Kumar V., Staden J. V. *A Review of Swertia chirayita (Gentianaceae) as a Traditional Medicinal Plant*. Front Pharmacol. 2015; 6:308; DOI: 10.3389/fphar.2015.00308.
400. Kutyrev V. V., Eroshenko G. A., et al. *Phylogeny and Classification of Yersinia pestis: Though the Lens of Strains From the Plague Foci of Commonwealth of Independent States*. Front Microbiol. 2018; 9:1106; DOI: 10.3389/fmicb.2018.01106.
401. *Laboratory biosafety manual*, *3rd ed.*, World Health Organization, WHO/CDS/CSR/LYO/2004.11, 2004, 181 p.
402. *Laboratory biosafety manual, fourth edition*, World Health Organization, 2020, 124 p.
403. Lagrange E. *Concerning the discovery of the plague bacillus*. Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 1926; 29:299–303.
404. Lan H.-Y., Zhao B., et al. *Phytochemistry, pharmacological activities, toxicity and clinical application of Momordica cochinchinensis*. Curr Pharm Des. 2019; 25(6):715–728; DOI: 10.2174/1381612825666190329123436.
405. Lasch P., Drevinek M., et al. Characterization of Yersinia Using MALDI-TOF Mass Spectrometry and Chemometrics. Anal. Chem. 2010; 82(20):8464–8475; DOI: 10.1021/ac101036s.
406. Lathem W. L., Crosby S. D., et al. *Progression of primary pneumonic plague: A mouse model of infection, pathology, and bacterial transcriptional activity*. PNAS. 2005; 102(49):17786–17791; DOI: 10.1073/pnas.0506840102.
407. Lathem W. W., Crosby S. D., et al. *Progression of primary pneumonic plague: A mouse model of infection, pathology, and bacterial transcriptional activity*. PNAS. 2005; 102(49):17786–17791; DOI: 10.1073/pnas.0506840102.
408. Lawrenz M. B. *Model system to study plague pathogenesis and develop new therapeutics*. Front Microbiol. 2010; 1:119; DOI: 10.3389/fmicb.2010.00119.
409. Layton R. C., Brasel T., et al. *Primary pneumonic plague in the African Green monkey as a model for treatment efficacy evaluation*. J Med Primatol. 2011; 40(1):6–17; DOI: 10.1111/j.1600-0684.2010.00443.x.
410. Leasor J. *The Plague and the Fire.,* London: George Allen and Unwin, 1962.
411. Lee S.-H., Kim D.-S., et al. *Phytochemistry and applications of Cinnamomum camphora essential oils*. Molecules. 2022; 27(9):2695; DOI: 10.3390/molecules27092695.
412. Lehmer E. M., Biggins D. E., et al. *Forage preferences in two species of prairie dog (Cynomys parvidens and Cynomus ludovicianus): Implications for hibernation and facultative heterothermy*. Journal of Zoology. 2006; 2(269):249–259; DOI: 10.1111/j.1469-7998.2006.00085.x.
413. Lei C., Kumar S. *Yersinia pestis antibiotic resistance: a systematic review*. Osong Public Health Res Perspect. 2022; 13(1):24–36; DOI: 10.24171/j.phrp.2021.0288.
414. Lemaître N., Liang X., et al. *Curative treatment of severe Gram-negative bacterial infections by a new class of antibiotics targeting LpxC*. mBio. 2017; 8(4):e00674–17; DOI: 10.1128/mBio.00674-17.
415. Lemon A., Sagawa J., et al. *Biovar-related differences apparent in the flea foregut colonization phenotype of distinct Yersinia pestis strains do not impact transmission efficiency*. Parasit Vectors. 2020; 13(1):335; DOI: 10.1186/s13071-020-04207-x.
416. Lemon A., Sagawa J., et al. *Biovar-related differences apparent in the flea foregut colonization phenotype of distinct Yersinia pestis strains do not impact transmission efficiency*. Parasit Vectors. 2020; 13(1):335; DOI: 10.1186/s13071-020-04207-x.
417. Leslie T., Whitehouse C. A., et al. *Outbreak of gastroenteritis caused by Yersinia pestis in Afghanistan*. Epidemiol Infect. 2011; 139(5):728–735; DOI: 10.1017/S0950268810001791.

418. Li B., Yang R. *Interaction between Yersinia pestis and the host immune system*. Infect Immun. 2008; 76(5):1804–1811; DOI: 10.1128/IAI.01517-07.
419. Li N., Hennely S. P., et al. *Functional and structural analysis of a highly-expressed Yersinia pestis small RNA following infection of cultured macrophages*. PLoS ONE 11(12): e0168915; DOI: 10.1371/journal.pone.0168915.
420. Liang J., Duan R., et al. *The complex genomic diversity of Yersinia pestis on the long-term plague foci in Qinghai-Tibet plateau*. Ecol Evol. 2023; 13:e10387; DOI: 10.1002/ece3.10387.
421. Lindner I., Torrvellas-Garcia J., et al. *Modulation of dendritic cell differentiation and function by YopJ of Yersinia pestis*. Eur J Immunol. 2007; 37(9):2450–2462; DOI: 10.1002/eji.200635947.
422. Liu F., Chen H., et al. *Effect of Psa and F1 on the adhesive and invasive interactions of Yersinia pestis with human respiratory tract epithelial cells*. Infect Immun. 2006; 74(10):5636–5644; DOI: 10.1128/IAI.00612-06.
423. Liu L., Fang H., et al. *Reciprocal regulation of Yersinia pestis biofilm formation and virulence by RovM and RovA*. Open Biol. 2016; 6(3):150198; DOI: 10.1098/rsob.150198.
424. Löffler F. *Weitere Untersuchungen über Beizung und Färbung der Geißeln bei den Bakterien*. Centralblatt für Bakteriologie. Mai 1890. Bd. VII.S. 625.
425. Lotfy W. M. *Plague in Egypt: Disease biology, history and contemporary analysis: a minireview*. J Adv Res. 2015; 6(4):549–554; DOI: 10.1016/j.jare.2013.11.002.
426. Lundberg K. S., Shoemaker D. D., et al. *High-fidelity amplification using a thermostable DNA polymerase isolated from Pyrococcus furiosus*. Gene. 1991; 108(1):1–6; DOI: 10.1016/0378-1119(91)90480-Y.
427. Lynteris C. *Pestis minor: the history of a contested plague pathology*. Bull Hist Med. 2019; 93(1):55–81; DOI: 10.1353/bhm.2019.0002.
428. Maaløe O. *The International Reference Preparation for Opacity*. Bull World Health Organ. 1955; 12(5): 769–775.
429. Macchiavello A. *Plague*, in *Clinical tropical medicine (Gradwohl R. B. H., Benitez S. L., et al.)*, St. Louis, 1951. P. 41.
430. Madison R. R. *Fibrinolytic Specificity of B. pestis*. Proceeding of the Society for the Experimental Biology and Medicine. 1936; 34(3):301–302; DOI: 10.3181/00379727-34-8597G.
431. Mahale K. N., Paranjape P. S., et al. *Draft Genome Sequences of Yersinia pestis Strains from the 1994 Plague Epidemic of Surat and 2002 Shimla Outbreak in India*. Indian J Microbiol. 2014; 54(4):480–482; DOI: 10.1007/s12088-014-0475-7.
432. Maiden M. C., Bygraves J. A., et al. *Multilocus sequence typing: A portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms*. PNAS. 1998; 95(6):3140–3145; DOI: 10.1073/pnas.95.6.3140.
433. Makoveichuk E., Cherepanov P., et al. *pH6 antigen of Yersinia pestis interacts with plasma lipoproteins and cell membranes*. J Lipid Res. 2003; 44(2):320–330; DOI: 10.1194/jlr.M200182-JLR200.
434. Malek M. A., Bitam I., et al. *Plague in Arab Maghreb, 1940–2015: A Review*. Front Public Health. 2016; 4:112; DOI: 10.3389/fpubh.2016.00112.
435. Malek M. A., Bitam I., et al. *Yersinia pestis halotolerance illuminates plague reservoirs*. Sci Rep. 2017; 7:40022; DOI: 10.1038/srep40022.
436. Malek M. A., Hammani A., et al. *Enzootic plague foci, Algeria*. New Microbes New Infect. 2014; 4:13–16; DOI: 10.1016/j.nmni.2014.11.003.
437. Mancini G., Carbonara A. O., et al. *Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion*. Immunocemistry. 1965; 2(3):235–254; DOI: 10.1016/0019-2791(65)90004-2

438. Margolis D. A., Burns J., et al. *Case report: septicemic plague in a community hospital in California*. Am J Trop Med Hyg. 2008; 78(6):868–871.
439. Markman D. W., Antolin M. F., et al. *Yersinia pestis survival and replication in potential ameba reservoir*. Emerg Infect Dis. 2018; 24(2):294–302; DOI: 10.3201/eid2402.171065.
440. Matson J. S., Nilles M. L. *LcrG-LcrV interaction is required for control of Yops secretion in Yersinia pestis*. J Bacteriol. 2001; 183(17):5082–5091; DOI: 10.1128/JB.183.17.5082-5091.2001.
441. McFarland J. *The nephelometer: an instrument for estimating the numbers of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines*. J Am Med Assoc. 1097; 49:1176–1178.
442. Medzhitov R., Preston-Hurlburt P., et al. *A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity*. Nature. 1997; 388:394–397; DOI: 10.1038/41131.
443. Meselson M., Guillemin J., et al. *The Sverdlovsk Anthrax outbreak of 1979*. Science. 1994; 266(5188):1202–1208; DOI: 10.1126/science.7973702.
444. Meyer K. F., Batchelder A. P. *A disease in wild rats caused by Pasteurella muricida*. J Infect Dis. 1926; 39:386-412.
445. Mirzaee F., Hosseini A., et al. *Medicinal, biological and phytochemical properties of Gentiana species*. J Tradit Complement Med. 2017; 7(4):400–408; DOI: 10.1016/j.jtcme.2016.12.013.
446. Mohan S., Gupta D. *Phytochemical analysis and differential in vitro cytotoxicity assessment of root extracts of Inula racemosa*. Biomed Pharmacother. 2017; 89:781–795; DOI: 10.1016/j.biopha.2017.02.053.
447. Mollaret H. H. *Experimental Preservation of Plague in Soil*. Bull Soc Pathol Exot Filiales. 1963; 56:1168–1182.
448. Monack D. M., Mecsas J., et al. *Yersinia pestis macrophages to undergo apoptosis and YopJ is necessary for this cell death*. PNAS. 1997; 94(19):10385–10390; DOI: 10.1073/pnas.94.19.10385.
449. Montenegro S. M., de Almeida A. M., et al. *Standartization of the dot enzyme-liked immunosorbent assay (dot-ELISA) for experimental plague*. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1993; 88(1):119–123; DOI: 10.1590/s0074-02761993000100018 .
450. Morelli G., Song Y., et al. *Phylogenetic diversity and historical patterns of pandemic spread of Yersinia pestis*. Nat Genet. 2010; 42(12):1140–1143; DOI: 10.1038/ng.705.
451. Moreno A. J., Reeves T. A., et al. *Imaging in plague*. Eur J Nucl Med. 1987; 13: 315–317
452. Mueller J. H., Hinton J. A *Protein-Free Medium for Primary Isolation of the Gonococcus and Meningococcus*. Experimental Biology and Medicine. 1941; 48(1): 330–333; DOI: 10.3181/00379727-48-13311.
453. Munyenyiwa A., Zimba M., et al. *Plague in Zimbabwe from 1974 to 2018: A review article*. PLoS Negl Trop Dis. 2019; 13(11):e0007761; DOI: 10.1371/journal.pntd.0007761.
454. Nagamine K., Hase T., et al. *Accelerated reaction by loop-mediated isothermal amplification using loop primers*. Mol Cell Probes. 2002; 16(3):223–229; DOI: 10.1006/mcpr.2002.0415.
455. Neerinckx S. B., Peterson A. T., et al. *Geographic distribution and ecological niche of plague in sub-Saharan Africa*. Int J Health Geogr. 2008; 7:54; DOI: 10.1186/1476-072X-7-54.
456. Nelson C. A., Meaney-Delman D., et al. *Antimicrobial treatment and prophylaxis of plague: recommendations for naturally acquired infections and bioterrorism response*. MMWR Recomm Rep. 2021; 70(3):1–27; DOI: 10.15585/mmwr.rr7003a1.

457. Nham T., Filali S., et al. *Imaging of bubonic plague dynamics by in vivo tracking of bioluminescent Yersinia pestis*. PLoS One. 2012; 7(4):e34714; DOI: 10.1371/journal.pone.0034714
458. Nikephori Gregorae. *Byzantina historia*. A cura L. Schopeni. Bonnae, 1830. Vol. 2.
459. Nikiforov V. V., Gao H., et al. *Plague: clinics, diagnosis and treatment*. Adv Exp Med Biol. 2016; 918:293–312; DOI: 10.1007/978-94-024-0890-4_11.
460. Nishiura H. *Epidemiology of a primary pneumonic plague in Kantoshu, Manchuria, from 1910 to 1911: statistical analysis of individual records collected by the Japanese Empire*. Int J Epidemiol. 2006; 35(4):1059–1065; DOI: 10.1093/ije/dyl091.
461. Noble A. *A rapid method for the macroscopic agglutination test*. J Bacteriol. 1927; 14(5):287–300; DOI: 10.1128/jb.14.5.287-300.1927.
462. Nostradamus. *Excellent et moult utile opuscule à tous nécessaire qui désirent avoir connoissan ce de plusieurs exquises receptes divisé en deux patries*. Lyon, 1553, 238 p.
463. Notomi T., Okayama H., et al. *Loop-mediated isothermal amplification of DNA*. Nucleic Acids Research. 2000; 28(15):e63; DOI: 10.1093/nar/28.12.e63.
464. Nyirenda S. S., Hang'ombe B. M., et al. *Molecular epidemiological investigations of plague in Eastern Province of Zambia*. BMC Microbiol. 2018; 18(1):2; DOI: 10.1186/s12866-017-1146-8.
465. Olson R. M., Anderson D. M. *Shift from primary pneumonic to secondary septicemic plague by decreasing the volume of intranasal challenge with Yersinia pestis in the murine model*. PLoS ONE. 2019; 14(5):e0217440; DOI: 10.1371/journal.pone.0217440.
466. Ouchterlony Ö. *Antigen – antibody reactions in gels*. Acta Pathol Microbiol Scand. 1949; 26(4):507–515; DOI: 10.1111/j.1699-0463.1949.tb00751.x.
467. Ouchterlony Ö. *In vitro method for testing the toxin-producing capacity of Diphtheria bacteria*. Acta Pathol Microbiol Scand. 1949; 26(4):507–515; DOI: 10.1111/j.1699-0463.1948.tb00655.x.
468. *Papers relating to the modern history and recent progress of Levantine plague; prepared from time to time by direction of the president to the local government board, with other papers. Presented to both Houses of Parliament by command of Her Majesty*, Published by London, George Edward Eyre & William Spottiswoode, 1879, 2262 p.
469. Paramanick D., Panday R., et al. *Primary pharmacological and other important findings on the medicinal plant «Aconitum heterophyllum» (Aruna)*. J Pharmacopuncture. 2017; 20(2):89–92; DOI: 10.3831/KPI.2017.20.011
470. Parkhill J., Wren B. W. *Genome sequence of Yersinia pestis, the causative agent of plague*. Nature. 2001; 413:523–527.
471. Parkhill J., Wren B. W., et al. *Genome sequence of Yersinia pestis, the causative agent of plague*. Nature. 2001; 413(6855):523–527; DOI: 10.1038/35097083.
472. Pawlowski D. R., Metzger D. J., et al. *Entry of Yersinia pestis into the viable but nonculturable state in a low-temperature tap water microcosm*. PLoS One. 2011; 6(3):e17585; DOI: 10.1371/journal.pone.0017585.
473. Pechous R. D., Sivaraman V., et al. *Early host cell targets of Yersinia pestis during primary pneumonic plague*. PLoS Pathog. 2013; 9(10):e1003679; DOI: 10.1371/journal.ppat.1003679.
474. Pechous R. D., Sivaraman V., et al. *Pneumonic plague: the darker side Yersinia pestis*. Trends Microbiol. 2016; 24(3):190–197; DOI: 10.1016/j.tim.2015.11.008.
475. Perry R. D., Straley S. C., et al. *DNA sequencing and analysis of the Low-Ca2+-response plasmid pCD1 of Yersinia pestis KIM5*. Infect Imminol. 1998; 66(10):4611–4623; DOI: 10.1128/iai.66.10.4611-4623.1998.
476. Pienkoß S., Javadi S., et al. *RNA Thermometer-coordinated assembly of the Yersinia injectisome*. J Mol Biol. 2022; 434(18):167667; DOI: 10.1016/j.jmb.2022.167667.
477. *Plague Vaccine*. MMWR. 1982; 31(22):301–304.

478. Platonov M. E., Evseeva V. V., et al. *Molecular typing of Yersinia pestis*. Molecular Genetics, Microbiology and Virology. 2013; 28(2):3–12; DOI: 10.3103/S0891416813020067.
479. Ponnusamy D., Clinkenbeard K. D. *Yersinia pestis intracellular parasitism of macrophages from hosts exhibiting high and low severity of plague*. PLoS ONE. 2012; 7(7):e42211; DOI: 10.1371/journal.pone.0042211.
480. Pouillot F., Derbise A., et al. *Evaluation of O-antigen inactivation on Pla activity and virulence of Yersinia pseudotuberculosis harbouring the pPla plasmid*. Microbiology (Reading). 2005; 151(Pt 11):3759–3768; DOI: 10.1099/mic.0.28274-0.
481. Pourcel C., Salvignol G., et al. *CRISPR elements in Yersinia pestis acquire new repeats by preferential uptake of bacteriophage DNA, and provide additional tools for evolutionary studies*. Microbiology (Reading). 2005; 151(3).
482. Prashar S., Guemes M. P., et al. *Novel disk diffusion assay on magnesium oxalate agar to evaluate the susceptibility of Yersinia pestis to type III secretion system inhibitors*. Microbiol Spectr. 2021; 9(1):e0000521; DOI: 10.1128/Spectrum.00005-21.
483. Pulsifer A. R., Vashishta A., et al. *Redundant and cooperative roles for Yersinia pestis Yop effectors in the inhibition of human neutrophil exocytic responses revealed by gain-of-function approach*. Infect Immun. 2020; 88(3):e00909–19; DOI: 10.1128/IAI.00909-19.
484. Qin J., Wu Y., et al. *Genomic diversity of Yersinia pestis from Yunnan Province, China, implies a potential common ancestor as the source of two plague epidemics*. Commun Biol. 2023; 6:847. DOI: 10.1038/s42003-023-05186-2.
485. *Quae supersunt Actorum graecorum Concilii Florentini*. Ed. J. Gill. R., 1953. P. 26.
486. Rahimi-Madiseh M., Lorigoini Z., et al. *Berberis vulgaris: specifications and traditional uses*. Iran J Basic Med Sci. 2017; 20(5):569–587; DOI: 10.22038/IJBMS.2017.8690.
487. Rajanna C., Revazishvili, et al. *Characterization of pPCP1 plasmids in Yersinia pestis strains isolated from the former Soviet Union*. Int J Microbiol. 2010; 2010:760819; DOI: 10.1155/2010/760819.
488. Rascovan N., Sjögren K.-G., et al. *Emergence and spread of basal lineages of Yersinia pestis during the neolithic decline*. Cell. 2019; 176(1-2):295–305; DOI: 10.1016/j.cell.2018.11.005
489. Rasool S, Maqbool M. *An overview about Hedychium spicatum: a review*. JDDT. 2019; 9(1-s):476–80; DOI: 10.22270/jddt.v9i1-s.2429.
490. Rawat S., Jugnar A. K., et al. *Hedychium spicatum: a systematic review on traditional uses, phytochemistry, pharmacology and future prospectus*. J Pharm Pharmacol. 2018; 70(6):687–712; DOI: 10.1111/jphp.12890.
491. Respicio-Kingry L. B., Yockey B. M., et al. *Two Distinct Yersinia pestis Populations Causing Plague among Humans in the West Nile Region of Uganda*. PLoS Negl Trop Dis. 2016; 10(2):e0004360; DOI: 10.1371/journal.pntd.0004360.
492. Ritger K., Black S., et al. *Fatal laboratory-acquired infection with an attenuated Yersinia pestis srain (Chicago, Illinois)*, Morb Mortal Wkly Rep. 2011; 60(7):201–205.
493. Rocke T. E., Russell R. E., et al. *Effects of climate change on plague exposure pathways and resulting disease dynamics*. Report 16RC01–012. Department of Defense. 2020; vii, 61 p.
494. Rolán H. G., Durand E. A., et al. *Identifying Yersinia YopH-targeted signal transduction pathways that impair neutrophil responses during in vivo murine infection*. Cell Host Microbe. 2013; 14(3):306–317; DOI: 10.1016/j.chom.2013.08.013.
495. Rosales-Mendoza S., Soria-Guerra R. E., et al. *Expression of an immunogenic F1-V fusion protein in lettuce as a plant-based vaccine against plague*. Planta. 2010; 232(2):409–16; DOI: 10.1007/s00425-010-1176-z.

496. Runfola J. K., House J., rt al. *Outbreak of Human Pneumonic Plague with Dog-to-Human and Possible Human-to-Human Transmission – Colorado, June-July 2014*. MMWR. 2015; 64(16):429–434.
497. Russel P., Nelson M., et al. *Laboratory diagnosis of plague*. Br J Bio Sci. 1997; 5(54):231–236.
498. Rutter-Williamson J. *Ambulatory plague*. Ind Med Gaz. 1903; 38(10):398.
499. Saha S., Ghosh S. *Tinospora cordifolia: One plant, many roles*. Anc Sci Life. 2012; 31(4): 151–159; DOI: 10.4103/0257–7941.107344.
500. Saikh K. U., Kissner T. L., et al. *Human cytolytic T cell recognition of Yersinia pestis virulence proteins that target innate immune responses*. J Infect Dis. 2006; 194(12):1753–1760; DOI: 10.1086/509507
501. Saiki R. C., Gelfand D. H., et al. *Primer-Directed Enzymatic Amplification of DNA with a Thermostable DNA Polymerase*. Science. 1988; 239(4839):487–491; DOI: 10.1126/science.2448875.
502. Samoïlowitz D. *Opuscules Sur La Peste Qui, en 1771, ravagea Moscou; avec un discours aux éléves des hôpitaux de l'Empire de Russie*. Paris: Chez Le Clerc, Libraire, quai des Auguftins, à la Toifon d'or, 1878, 208 p.
503. Sanapala S., Rahav H., et al. *Multiple antigens of Yersinia pestis delivered by live recombinant attenuated Salmonella vaccine strains elicit protective immunity against plague*. Vaccine. 2016; 34(21):2410–2416; DOI: 10.1016/j.vaccine.2016.03.094.
504. Sanger F., Nicklen S., et al. *DNA sequencing with chain-terminating inhibitors*. PNAS. 1977; 74(12):5463–5467; DOI: 10.1073/pnas.74.12.5463
505. Schaffer P. A., Brault S. A., et al. *Pneumonic Plague in a dog and widespread potential human exposure in a veterinary hospital, United States*. Emerg Infect Dis. 2019; 25(4):800–803; DOI:10.3201/eid2504.181195
506. Schaffer P. A., Hershkowitz C. S., et al. *Delayed diagnosis of fatal pneumonic canine plague: clinical and pathologic features in two naturally infected Colorado dogs*. BMC Vet Res. 2020; 16:160; DOI: 10.1186/s12917-020-02361-z.
507. Schatz A. *The true story of the development of streptomycin*. Actinomycetes. 1993; 4(2):27–39.
508. Schiano C. A., Koo J. T., et al. *Genome-wide analysis of small RNAs expressed by Yersinia pestis identifies a regulator of the Yop-Ysc Type III secretion system*. J Bacteriol. 2014; 196(9):1659–1670; DOI: 10.1128/JB.01456-13.
509. Schofield D. A., Sharp N. J., et al. *Phage-based platforms for the clinical detection of human bacterial pathogens*. Bacteriophage. 2012; 2(2):105–283; DOI: 10.4161/bact.19274.
510. Schotthoefer A. M., Bearden S. W., et al. *Effects of temperature on early-phase transmission of Yersinia pestis by the flea, Xenopsylla cheopis*. J Med Entomol. 2011; 48(2):411–417; DOI: 10.1603/me10155.
511. Schotthoefer A. M., Bearden S. W., et al. *Effects of temperature on the transmission of Yersinia pestis by the flea, Xenopsylla cheopis, in the late phase period*. J Med Entomol. 2011; 4:191; DOI: 10.1186/1756-3305-4-191.
512. Schwiesow L., Lam H., et al. *Yersinia Type III secretion system master regulator LcrF*. J Bacteriol. 2015; 198(4):604–614; DOI: 10.1128/JB.00686-15.
513. Sebbane F., Devalckenaere A., et al. *Silencing and reactivation of urease in Yersinia pestis is determined by one G residue at a specific position in the ureD gene*. Infect Immun. 2001; 69(1):170–176; DOI: 10.1128/IAI.69.1.170-176.2001.
514. Sebbane F., Jarrett C. O., et al. *Role of Yersinia pestis plasminogen activator in the incidence of distinct septicemic and bubonic forms of flea-borne plague*. PNAS. 2006; 103(14):5526–5530; DOI: 10.1073/pnas.0509544103.
515. Sebbane F., Lemaître N. *Antibiotic therapy of plague: a review*. Biomolecules 2021; 11(5):724; DOI: 10.3390/biom11050724.

516. Sebbane F., Uversky V. N., et al. *Yersinia pestis plasminogen activator*. Biomolecules. 2020; 10(11):1554; DOI: 10.3390/biom10111554.
517. Sergueev K. V., He Y., et al. *Rapid and sensitive detection of Yersinia pestis using amplification of plague diagnostic bacteriophages monitored by Real-Time PCR*, PLoS One. 2010; 5(6):e11337; DOI: 10.1371/journal.pone.0011337.
518. *Sessio Ferrariensis XII (XIII)*. Andreas de Santacroce. Acta Latina Concilii Florentini. Ed.: G. Hofmann. R., 1955. P. 119.
519. Shahraki A. H., Carniel E., et al. *Plague in Iran: its history and current status*. Epidemiol Health. 2016; 38:e2016033; DOI: 10.4178/epih.e2016033.
520. Sharifi-Rad J., Quispe C., et al. *Santalum Genus: phytochemical constituents, biological activities and health promoting-effects*. Z Naturforsch C J Biosci. 2022; 78(1–2):9–25; DOI: 10.1515/znc-2022-0076.
521. Sharkey D. J., Scalice E. R., et al. Antibodies as Thermolabile Switches: High Temperature Triggering for the Polymerase Chain Reaction. Nature Biotechnology. 1994; 12(5):506–509; DOI: 10.1038/nbt0594-506.
522. Shuttleworth H. L., Duggleby C. J., et al. *Nucleotide sequence analysis of the gene for protein A from Staphylococcus aureus Cowan 1 (NCTC8530) and its enhanced expression in Escherichia coli*. Gene. 1987; 58(2–3):283–295; DOI: 10.1016/0378-1119(87)90383-0.
523. Simond P. *La propagation de la Peste*. Ann Inst Past (Paris). 1898; 12(10):625–687
524. Singh R., Pal V., et al. *Development of a pair of real-time loop mediated isothermal amplification assays for detection of Yersinia pestis, the causative agent of plague*. Mol Cell Probes. 2020; 54:101670; DOI: 10.1016/j.mcp.2020.101670.
525. Skurnik M. *Can bacteriophages replace antibiotics?* Antibiotics. 2022; 11(5):575; DOI: 10.3390/antibiotics11050575.
526. Skurnik M., Bölin I., et al. *Virulence plasmid-associated autoagglutination in Yersinia spp*. J Bacteriol. 1984; 158(3):1033–1036; DOI: 10.1128/jb.158.3.1033-1036.1984.
527. Skurnik M., Peippo A., et al. *Characterization of the O-antigen gene clusters of Yersinia pseudotuberculosis and the cryptic O-antigen gene cluster of Yersinia pestis shows that the plague bacillus is most closely related to and has evolved from Y. pseudotuberculosis serotype O:1b*. Mol Microbiol. 2000; 37(2):316–330; DOI: 10.1046/j.1365-2958.2000.01993.x.
528. Slavin Ph., Sebbane F. *Emergence and spread of ancestral Yersinia pestis in Late-Neolitic and Bronze-Age Eurasia, ca. 5,000 to 2,500 y B.P.* PNAS. 2022; 119(21):e2204044119; DOI: 10.1073/pnas.2204044119.
529. Song Y., Tong Z., et al. *Complete genome sequence of Yersinia pestis strain 91001, an isolate avirulent to humans*. DNA Res. 2004; 11(3):179–197; DOI: 10.1093/dnares/11.3.179.
530. *Sorig men nag nyongjangchogdrikphendhe nor bukor*, khamtsang drug gyal, mirig pe trunk hang, 1994.
531. Spinner J. L., Carmody A. B., et al. *Role of Yersinia pestis toxin complex family proteins in resistance to phagocytosis by polymorphonuclear leukocytes*. Infect Immun. 2013; 81(11):4041–4052; DOI: 10.1128/IAI.00648-13.
532. Srivastana R., Ahmed H., et al. *Crocus sativus L.: A comprehensive review*. Pharmacogn Rev. 2010; 4(8):200–208; DOI: 10.4103/0973-7847.70919.
533. Stahly T.L., Shoop J.D. *Plague and the Gallium Scan: Case Report*. Journal of Nuclear Medicine. 1975; 16(11):1031-1032
534. Suladze T., Jaiani E., et al. *New Bacteriophages with Podoviridal Morphotypes Active against Yersinia pestis: Characterization and Application Potential*. Viruses. 2023; 15(7):1484; DOI: 10.3390/v15071484.
535. Sumida T. *Plague Masks in Japan: Reflecting on the 1899 German Debates and the Suffering of Patients/Doctors in Osaka*. East Asian Science, Technology and Society: An International Journal; 16(1):74–85; DOI: 10.1080/18752160.2021.2015121.

536. Sun W., Roland K.L., et al. *Developing live vaccines against Yersinia pestis*. J Infect Dev Ctries. 2011; 5(9):614–627; DOI: 10.3855/jidc.2030.
537. Sun Y.-C., Jarrett C. O. *Retracing the Evolutionary Path that Led to Flea-borne Transmission of Yersinia pestis*. Cell Host Microbe. 2014; 15(5):578–586; DOI: 10.1016/j.chom.2014.04.003.
538. Sun Z., Xu L., et al. *Human plague system associated with rodent diversity and other environmental factors*. R Soc Open Sci. 2019; 6(6):190216; DOI: 10.1098/rsos.190216.
539. Suntsov V. V. *Molecular phylogenies of the plague microbe Yersinia pestis: an environmental assessment*. AIMS Microbiol. 2023; 9(4):712–723; DOI: 10.3934/microbial.2023036.
540. Suntsov V. V. *Parallelism in speciation and intraspecific diversification of the plague microbe Yersinia pestis*. Biology Bulletin. 2023; 50(2):103–109; DOI: 10.1134/S1062359023010120.
541. Suntsov V. V., Huong L. T. V., et al. *Plague foci in Viet Nam: zoological and parasitological aspects*. Bulletin of the World Health Organization. 1997; 74(2):117–123.
542. Susat J., Lübke H., et al. *A 5,000-year-old hunter-gatherer already plagued by Yersinia pestis*. Cell Report. 2021; 35(13); DOI: 10.1016/j.celrep.2021.109278.
543. Suzuki S., sakakibara H., et al. *Latex agglutination tests for measurement of antiplague antibodies*. J Clin Microbiol. 1977; 6(4):332–336; DOI: 10.1128/jcm.6.4.332-336.1977.
544. Tahir Y. el., Skurnik M. *YadA, the multifaceted Yersinia adhesin*. Int J Med Microbiol. 2001; 291(3):209–218; DOI: 10.1078/1438-4221-00119.
545. Tam C., Demke O., et al. *YfbA, a Yersinia pestis regulator required for colonization and biofilm formation in the gut of cat fleas*. J Bacteriol. 2014; 196(6):1165–1173; DOI: 10.1128/JB.01187-13.
546. Tanaka K., Waki H., et al. *Protein and polymer analyses up to m/z 100 000 by laser ionization time-of-flight mass spectrometry*. Rapid Communications in Mass Spectrometry. 1988; 2(8):151–153; DOI: 10.1002/rcm.1290020802.
547. Tao P., Mahalingam M, et al. *A bivalent Anthrax-Plague vaccine that can protect against two Tier-1 bioterror pathogens, Bacillus anthracis and Yersinia pestis*. Front Immunol. 2017; 8:687; DOI: 10.3389/fimmu.2017.00687.
548. Telepnev M. V., Klimpel G. R. *Tetraacylated lipopolysaccharide of Yersinia pestis can inhibit multiple Toll-like receptor-mediated signaling pathways in human dendritic cells*. J Infect Dis. 2009; 200(11):1694–1702; DOI: 10.1086/647986.
549. *The Nobel cause*, The Lancet Infection Diseases. 2005; 5(11):665; DOI: 10.1016/S1473-3099(05)70245-0.
550. Thorne E. T., Quan T. J., et al. *Plague in a free-ranging mule deer of Wyoming*. J Wildl Dis. 1987; 23(1):155–159; DOI: 10.7589/0090-3558-23.1.155.
551. Tian G., Qiu Y., et al. *Histopathological observation of immunized rhesus macaques with plague vaccines after subcutaneous infection of Yersinia pestis*. PLoS ONE. 2011; 6(4):e19260; DOI: 10.1371/journal.pone.0019260.
552. Torosian S. D., Regan P. M., et al. *Detection of Yersinia pestis over time in seeded bottled water samples by cultivation on heart infusion agar*. Can J Microbiol. 2009; 55(9):1125–1129; DOI: 10.1139/w09-061.
553. Trosky J. E., Liverman A. D. B. *Yersinia outer proteins: Yops*. Cellular Microbiology. 2007; 10(3):557–565; DOI: 10.1111/j.1462-5822.2007.01109.x.
554. Tsukano H., Wake A., et al. *Plasmid-like properties of the four virulence-associated factors of Yersinia pestis*. Microbiol Immunol. 1986; 30(9):837-848; DOI: 10.1111/j.1348-0421.1986.tb03011.x.
555. Twort F. W. *An investigation on the nature of ultra-microscopic viruses*. Lancet. 1915; 186(4814):1241–1243; DOI: 10.1016/S0140-6736(0)20383-3.

556. Vadyvaloo V., Hinz A. K. *A LysR-type transcriptional regulator, RovM, senses nutritional cues suggesting that it is involved in metabolic adaptation of Yersinia pestis to the Flea Gut*. PLoS ONE. 2015; 10(9):e0137508; DOI: 10.1371/journal.pone.0137508.
557. Vagima Y., Gur D., et al. *Phage therapy potentiates second-line antibiotic treatment against pneumonic plague*. Viruses. 2022; 14(4):688; DOI: 10.3390/v14040688.
558. Vagima Y., Levy Y., et al. *Early sensing of Yersinia pestis airway infection by bone marrow cells*. Front Cell Infect Microbiol. 2012; 2:143; DOI: 10.3389/fcimb.2012.00143.
559. Valtueña A. A., Neumann G. U., et al. *Stone age Yersinia pestis genomes shed light on the early evolution, diversity, and ecology of plague*. PNAS. 2022; 119(17):e2116722119; DOI: 10.1073/pnas.2116722119.
560. Van den Ende J. *Marinus van den Ende*. SAMJ Forum. 2009; 99(1):29–32
561. Van den Ende M., Hubbard A. J. G. *An apparatus for the safe inoculation of animals with dangerous pathogens*. J Hyg (Lond). 1943; 43(3): 189–195; DOI: 10.1017/s0022172400012808.
562. Van Weemen B. K., Schuurs A. H. W. M. Immunoassay using antigen-enzyme conjugates. FEBS Letters. 1971; 15(3):232–236; DOI: 10.1016/0014-5793(71)80319-8.
563. Variya B. C., Bakrania A. K., et al. *Emblica officinalis (Amla): A review for its phytochemistry, ethnomedicinal uses and medicinal potentials with respect to molecular mechanisms*. Pharmacol Res. 2016; 111:180–200: DOI: 10.1016/j.phrs.2016.06.013
564. Voges O., Proskauer B. *Beitrag zur Ernährungspysiologie und zur Differentialdiagnose der Bakterien der hämorrhagischen Septicämie*. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. 1898; 28:20–32; DOI: 10.1007/BF02285362.
565. Von Reyn C. F., Barnes A. M., et al. *Bubonic plague from exposure to a rabbit: a documented case, and a review of rabbit-associated plague cases in the United States*. Am J Epidemiol. 1976; 104(1):81–87; DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a112276.
566. Wainwright M. *André Gratia (1893–1950): forgotten pioneer of research into antimicrobal agents*. J Med Biogr. 2000; 8:39–42; DOI: 10.1177/096777200000800108.
567. Wang G.-W., Qin J.-J., et al. *Inula sesquiterpenoids: structural diversity, cytotoxicity and anti-tumor activity*. Expert Opin Investig Drugs. 2014; 23(3):317–45; DOI: 10.1517/13543784.2014.868882.
568. Wang H., Cui Y. *A dog-associated primary pneumonic plague in Qinghai Province, China*. Clin Infect Dis. 2011; 52(2):185-190; DOI: 10.1093/cid/ciq107
569. Wang L-M., Luo Z-D., et al. *Study on the natural foci of Marmota himalayana plague in Sichuan province*. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi. 2009; 30(6):601–605; DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2009.06.016.
570. Wang S., Helman D., et al. *A DNA vaccine producing LcrV antigen in oligomers is effective in protecting mice from lethal mucosal challenge of plague*. Vaccine. 2004; 22(25-26):3348–57; DOI: 10.1016/j.vaccine.2004.02.036.
571. Wang T., Wang M., et al. *Reversible gene expression control in Yersinia pestis by using an optimized CRISPR interference system*. Appl Environ Microbiol. 2019; 85(12):e00097–19; DOI: 10.1128/AEM.00097-19
572. Watson J. D., Crick F. H. C. Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. Nature. 1953; 171:737–738; DOI: 10.1038/171737a0.
573. Watson R. P., Blanchard T. W., et al. *Histopathology of experimental plague in cats*. Veterinary Pathology. 2001; 38(2):165–172; DOI: 10.1354/vp.38-2-165.
574. Wedum A. G. *Bacteriological Safety*. Am J Public Health Nations Health. 1953; 43(11):1428–1437; DOI: 10.2105/ajph.43.11.1428.
575. Wedum A. G. *Nonautomatic pipetting devices for the microbiologic laboratory*. J Lab Clin Med. 1950; 35(4):648–651.

576. Weekly Epidemiological Record (World Health Organization). 2021; 96(23):238–240.
577. Weller T. H., Coons A. H. *Fluorescent antibody studies with agents of varicella and herpes zoster propagated in vitro*. Proc Soc Exp Biol Med. 1954; 86(4):789–794; DOI: 10.3181/00379727-86-21235.
578. Wilkins M. H. F., Stokes A. R, et al. Molecular Structure of Deoxypentose Nucleic Acids. Nature. 1953; 171:738–740; DOI: 10.1038/171738a0.
579. Wilm *Hygeien Rundschau*. 1897; 7:285–300.
580. Wittwer M., Heim J., et al. *Tapping the potential of intact cell mass spectrometry with a combined data analytical approach applied to Yersinia spp.: Detection, differentiation and identification of Y. pestis*. Systematic and Applied Microbiology. 2011; 34(1):12–19; DOI: 10.1016/j.syapm.2010.11.006.
581. Woolhouse M. E., Dye C., et al. *Heterogeneities in the transmission of infectious agents: implications for the design of control programs*. PNAS. 1997; 94(1):338–342; DOI: 10.1073/pnas.94.1.338.
582. Wren B. W. *The Yersiniae - a model genus to study the rapid evolution of bacterial pathogens*. Nat Rev Microbiol. 2003; 1:55–64; DOI; 10.1038/nrmicro730.
583. Xi J., Duan R., et al. *First Case report of human plague caused by excavation, skinning, and eating of a hibernating marmot (Marmota himalayana)*. Front Public Health. 2022; 10:910872; DOI: 10.3389/fpubh.2022.910872.
584. Xu L., Stige L. C., et al. *Historical and genomic data reveal the influencing factors on global transmission velocity of plague during the Third Pandemic*. PNAS. 2019; 116(24):11833–11838; DOI: 10.1073/pnas.1901366116,
585. Xu L., Wang Q., et al. *Climate-driven marmot-plague dynamics in Mongolia and China*. Sci Rep. 2023; 13(1):11906; DOI: 10.1038/s41598-023-38966-1.
586. Yang R., Atkinson S., et al. *Yersinia pestis and Plague: some knowns and unknowns*. Zoonoses (Burlingt). 2023; 3(1):5; DOI: 10.15212/zoonoses-2022-0040
587. Ye Z., Gorman A. A., et al. *Caspase-3 mediates the pathogenic effect of Yersinia pestis YopM in Liver of C57BL/6 mice and contributes to YopM's function in spleen*. PLoS ONE. 2014; 9(11):e110956; DOI: 10.1371/journal.pone.0110956.
588. Yersin A. *Sur la peste bubonique (Séro-thérapie)*. Ann Inst Pasteur (Paris). 1897; 1:81–93.
589. *Yersinia pestis: Retrospective and Perspective, Editors: R. Yang, A. Anisimov*, Springer, 2016, 391 p.
590. Yeszhanov A. B., Yeszhanova A. T., et al. *The value of the long-eared hedgehog (Hemiechinus auritus Gmelin, 1770) as a plague host, and ecological links with the great gerbil (Rhombomys opimus Lichtenstein, 1823) in the pre-balkhash plague focus*. Collection of Abstracts of the International Conference «Epidemiological Well-Being» (Moscow, April 20–21, 2021). PP. 69–71.
591. Zang Er-H., Chen Z.-W., et al. *Chemical constituents of Physochlaina physaloides (L.) G. Don (Solanaceae)*, Biochemical Systematics and Ecology, 2021; 98:104332; DOI: 10.1016/j.bse.2021.104332.
592. Zav'yalov V. P., Chernovskaya T. V., et al. *Influence of the conserved disulphide bond, exposed to the putative binding pocket, on the structure and function of the immunoglobulin-like molecular chaperone Caf1M of Yersinia pestis*. Biochem J. 1997; 324 (Pt 2)(Pt 2):571–578; DOI: 10.1042/bj3240571.
593. Zav'yalov V. P., Chernovskaya T. V., et al. Specific high affinity binding of human interleukin 1 beta by Caf1A usher protein of Yersinia pestis. FEBS Lett. 1995; 371(1):65–68; DOI: 10.1016/0014-5793(95)00878-d.

594. Zhang K., Wang L., et al. *Traditional Tibetan medicine to fight against COVID-19: Basic theory and therapeutic drugs*. Front Pharmacol. 2023; 14:1098253; DOI:10.3389/fphar.2023.1098253.
595. Zhang P., Skurnik M., et al. *Human dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-grabbing nonintegrin (CD209) is a receptor for Yersinia pestis that promotes phagocytosis by dendritic cells*. Infect Immun. 2008; 76(5):2070–2079; DOI: 10.1128/IAI.01246-07.
596. Zhang W., Abdel-Rahman F. H., et al. *Natural resistance of rose petals to microbial attack*. J Environ Sci Health B. 2011; 46(5):381–93; DOI: 10.1080/03601234.2011.572502.
597. Zhang Y., Gao H., et al. *Molecular characterization of transcriptional regulation of rovA by PhoP and RovA in Yersinia pestis*. PLoS ONE. 2011; 6(9):e25484; DOI: 10.1371/journal.pone.0025484.
598. Zhao X., Skurnik M. *Bacteriophages of Yersinia pestis*. Adv Exp Med Biol. 2016; 918:361–375; DOI: 10.1007/978-94-024-0890-4_13.
599. Zhao X., Wu W., et al. The complete genome sequence and proteomics of Yersinia pestis phage Yep-phi. J Gen Virol. 2011; 92(Pt 1):216-221; DOI: 10.1099/vir.0.026328-0.
600. Zhou D., Tong Z., et al. *Genetics of metabolic variations between Yersinia pestis biovars and the proposal of a new biovar, microtus*. J Bacteriol. 2004; 186(15):5147–5152; DOI: 10.1128/JB.186.15.5147-5152.2004.
601. Zhou H., Guo S. *Two cases of imported pneumonic plague in Beijing, China*. Medicine (Baltimore). 2020; 99(44):e22932; DOI: 10.1097/MD.0000000000022932
602. Zimbler D. L., Schroeder J. A., et al. *Early emergence of Yersinia pestis as a severe respiratory pathogen*. Nature Communications. 2015; 6:7487; DOI: 10.1038/ncomms8487.
603. Ziskind B. *Le paludisme: un fléau de l'ancienne Egypte*. Rev Prat. 2009; 59(4):586–589.
604. Zugravu C.-A., Medar C., et al. *Beer and microbiota: pathways for a positive and healthy interaction*. Nutrients. 2023; 15(4):844; DOI: 10.3390/nu15040844.
605. 『明治四十三四年南滿州「ペスト」流行誌附録寫眞帖』, 関東都督府臨時防疫部, 1912.3.; DOI: 10.11501/1880517.
606. 浅井健吉, 室谷脩太郎 編『ペスト病論』,吐鳳堂,明 32.12 (1899); DOI: 10.11501/835412.
607. 山極勝三郎 著『ペスト病論』, 半田屋医籍, 明 33.1 (1900); DOI:10.11501/835414.
608. 石神亨 編 ほか『ペスト』, 石神亨, 明 33.3 (1900); DOI: 10.11501/835396.
609. 北里柴三郎 述『「ペスト」ト蚤ノ関係ニ就テ：淡路島由良町ニ於ケル「ペスト」流行ノ研究』、東京市役所, 明 42.1 (1909); DOI: 10.11501/835397.
610. 『神奈川県ペスト流行史』, 神奈川県警察部, 明 43.5 (1910); DOI: 10.11501/835116.
611. 今林 直樹『沖縄の昔話と病. 沖縄研究ノート』, 2021; 30:1–13; DOI: 10.20641/00000567.
612. 前田勇樹『明治後期の沖縄における感染症流行と衛生, 島嶼地域科学』, 2021; 2:41–61.
613. 波江 彰彦, 廣川 和花 『近代大阪における第一次ペスト流行 』人文地理学会大会　研究発表要旨 2010; 12–12; DOI: 10.11518/hgeog.2010.0.12.0.

Архивные документы:

1. *Собственноручные показания японского военнопленного Карасава Томио от 27 декабря 1946 г.* (Машинопись на русском языке.). Государственный архив Российской Федерации. Ф. Р-9492. Оп. 10с. Д. 147. Л. 399–401. Заверенная копия.
2. *Протокол допроса японского военнопленного Ямада Отодзо от 1 декабря 1949 г.* Российский государственный военный архив. Ф. 451п. Оп. 20. Д. 50. Л. 64–71. Заверенная копия.
3. *Протокол допроса японского военнопленного Ниси Тосихидэ от 15–17 января 1947 г.* (Машинопись на русском языке.). Государственный архив Российской Федерации. Ф. Р-9492. Оп. 10 с. Д. 147. Л. 405–417. Заверенная копия.
4. Протокол допроса Ямамото Сеоэй о его службе в должности военного врача в противоэпидемическом отряде №731 от 27 мая 1950 г. (Рукоп. текст.). Архив УФСБ России по Хабаровскому краю.Ф. К-1. Оп. 1. Д. 1. Опубл.: Хабаровский процесс. Документальные свидетельства. С. 236–272. Подлинник.
5. *Заключение судебно-медицинской экспертизы по уголовному делу японских военнопленных, обвиняющихся в подготовке бактериологической войны против СССР от 1 ноября 1949 г.* Российский государственный военный архив. Ф. 451п. Оп. 20. Д. 69. Л. 151–162. Подлинник.
6. *Показания японского военнопленного Ямамото Сеоэй от 18 июля 1949 г.* (Перевод на русский язык. Рукопись.). Центральный архив ФСБ России. Опубл.: Хабаровский процесс. Документальные свидетельства. С. 84–87. Документ № 17. Подлинник.
7. *Протокол допроса японского военнопленного Кавасима Киёси от 8, 12, 20 декабря 1946 г.* (Перевод на русский язык. Машинопись.). Центральный архив ФСБ России. Опубл.: Хабаровский процесс. Документальные свидетельства. С. 168–179. Документ № 43. Заверенная копия
8. 北里原稿「日本に於けるペスト蔓延及撲滅」.

Интернет-ресурсы:

1. https://www.koelner-dom.de/grabmaeler/grabmal-des-grafen-gottfried-von-arnsberg-1371
2. https://maa.missouri.edu/gallery/memento-mori
3. http://zhivotnovodstvo.net.ru/maloizvestnye-zaraznye-bolezni-zhivotnyh/1986-chuma-verblyudov-pestis-camelorum.html
4. https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00041848.htm
5. https://nuke.fas.org/guide/japan/bw/
6. https://mgnot.ru/index.php?mod1=art&gde=ID&f=19201&m=1&PHPSESSID=opi2kj955s0v50t69uopsun0q1
7. https://icd.who.int/browse11/l-m/ru
8. https://www.nobelprize.org/prizes/lists/all-nobel-laureates-in-physiology-or-medicine/
9. https://www.haffkineinstitute.org/waldemar.htm
10. https://historymed.ru/encyclopedia/news/index.php?ELEMENT_ID=8374
11. https://emergency.cdc.gov/agent/agentlist-category.asp#catdef
12. https://www.who.int/ru/emergencies/disease-outbreak-news/item/plague---madagascar

А
Аварии 340, 454
Аварийная бригада 346
Агглютинации фактор 439
Активатор плазминогена 52, 75, 93, 143, 174, 178, 510
Активность
– гемолитическая 408
– плазмокоагулазная 412
– фибринолитическая 413
Амбулаторная чума 224
Амплификактор 480
Анализ
– иммуноферментный 430
– иммунохроматографический 428
– точечный твёрдофазный иммуноферментный 433
Антибиотики 268, 472
Антибиотикотерапия (схемы) 273
Антибиотикочувствительность 466
Антигенная единица 444
Антигены
– основной соматический 97
– фракция V 440
– энтеробактериальный общий 98
– FI (капсульный) 91, 144, 174, 265, 307, 430, 511
– LcrV 89, 151, 265, 307, 430
– pH6 85, 150
Антитела
– моноклональные 265, 429
– поликлональные 429
Атипичные штаммы 511
Ауксотрофность 65, 365, 513

Б
Бактериемия
– животные 111
– человек 152
Бактериофаги
– литические 50, 95, 292, 419, 486, 512
– умеренные 50, 54, 88, 100, 425
Белки
– иммунитета к пестицину 98
– рецепторсвязывающие 426
– Ail 86, 143, 426
– RipA 149
– YapE 147
– YipA 144
– YitA 144
– Yop 86, 89, 144, 178, 307
Бескапсульные штаммы 278, 396, 430, 440, 453, 511
Беспигментные штаммы 510
Бесплазмидные штаммы 510
Биологическая безопасность 325, 338, 454
Биоплёночная модель 76
Биопробные животные 134, 452
Блокада преджелудка (чумной блок) 73
Бодхисаттва мудрости 265
Бокс биологической безопасности 333
Бубон вторичный 203
Бубонная форма
– животные 110
– человек 151, 199

В
Вакцина чумная
– ДНКовая 308
– жидкая инактивированная 303
– конъюгированная 309
– микрокапсулированная 309, 314
– пептидная 308, 314
– Покровской 304
– растительная 309
– рекомбинантная 307
– рекомбинантная векторная 307
– убитая 302
– химическая 308, 314
– 46-S 305
– EV НИИЭГ 304 , 312
– EV76 303
– Tjiwidej 303
Вакцинация 312
Виварий 450

Г
Гены запасания гемина 73, 84
Главный комплекс гистосовместимости
– I класса 144
– II класса 149
Глоточная форма 184
Гостальность 67

Д
Диагностика
– дифференциальная 232
– лабораторная 399, 495
Диссоциация 401
ДНК-лестница 483

З
Забор материала 357
Заражение лабораторное
– животных 455
– человека 170, 176, 321
Зонирование 327

И
Иммунодиффузия радиальная 435
Ингибитор лизоцима позвоночных 143
Ингибитор пути тканевого фактора 143
Ингибитор пути тканевого фактора 94
Инкубационный период 194
Интоксикации синдром 196

Й
Йерсиниабактин 84, 142, 171
Йерсинопин 85, 143

К
Капсулы окрашивание
– по Гинсому 391
– по Клеттему 391
– по Ольту 391
Карбункул вторичный 198
Катионные антимикробные пептиды 142, 284
Классификация 216, 222, 326
Коагулазная модель 75
Кожная форма
– животные 106
– человек 142, 198, 222
Кожно-бубонная форма 199
Костюм 320
Культуры окрашивание
– метиленовым синим 388
– модификация А.И. Синёва 387

– модификация Н.Н. Клемпарской 388
– по Вейсону 390
– по Граму 39, 386
– по Райту 390
– по Романовскому-Гимзе 389
– по С.Н. Муромцеву 463

Л
Лёгочная вторичная форма
– верблюды 113
– животные 112
– кошки 113
– человек 155, 204
– чернохвостые олени 113
Лёгочная первичная форма
– кошки 117
– собаки 119
– человек 176, 211
Лизоцим 143
Лимфа Хавкина 302
Липополисахарид 94, 138, 142, 178, 307, 441

М
Малая чума 224
Маркеры размера молекулярной массы 483
Масс-спектрометрия (MALDI-TOF) 508
Менингеальная форма
– животные 113
– человек 157, 217
Метод
– А. Грация 421
– антигенурии 465
– диагностических рабочих разведений 419
– диско-диффузионный 467
– Р. Аппельмана 419
– серийных разведений 470
– Т. Грегерсена 389
Механизмы передачи
– аэрогенный 80, 186
– контактный 79
– трансмиссивный 79, 196
– фекально-оральный 80, 185, 223
Микроскопирование 384, 397
Миндальная форма 184
Морфология колоний 377
Мышиный токсин 51, 73

Н
Некультивируемые формы 383
Носители 33, 51, 60, 67, 185

О
Обеззараживание отходов 320
Остров высокой патогенности 84, 171, 303
Открытие 38
Очаги 62

П
Пандемии
– вторая 36
– первая 30
– третья 38, 319
Патогенез
– верблюды 125
– грызуны 117
– животные 106
– обезьяны 135
– человек 142, 170
Патогенный биологический агент 325
Патологоанатомические изменения
– животные 113, 127, 364, 462

– человек 159, 175, 181
Патологоанатомическое исследование 459
Первичный аффект 106, 142, 198
Переносчики 44, 51, 60, 72
Пестицин 98
Пестициногенность 412
Петлевая изотермическая амплификация 487
Пигментсорбция 415
Плазмиды
– конъюгативные 98
– криптические 99, 510
– pCad 52, 56, 83, 89, 303, 453, 483
– pFra 51, 56, 83, 91, 135, 483
– pPla 51, 83, 483
Пневмокостюм 348
Подвижность 393
Полимеразная цепная реакция 55, 479
Порины 85
Посев материала 371
Правило “80:20” 155
Преципитация
– по А. Асколи 434
– по Э. Оухтерлони 434
Пробоподготовка 432, 442, 482
Противочумный костюм 350
Профилактика
– неспецифическая 295
– специфическая 300
Пульмонарная форма 112, 180

Р

Реакция
– агглютинации 436 (модификация Е.И. Коробковой 436)
– агглютинация по Р. Кану 437 (модификация А. Нобл 438)
– ко-агглютинации 440
– латексной агглютинации 447
– нейтрализации антигена 448
– нейтрализации антитела 448
– непрямой гемагглютинации 442
– прямой гемагглютинации 442
– торможения непрямой (пассивной) гемагглютинации 444
Резистентные штаммы 288, 324
Рецепторы клеточные
– CD205 149
– CD209 144
– ILR-4 151
– TLR-9 144
– CD4 144, 173

С

Санарелли-Шварцмана феномен 203
Святилище Коха-Катасато 267
Секвенирование
– мультилокусное 492
– по Ф. Сенгеру 489
Септическая вторичная форма
– животные 111
– человек 154, 180
Септическая первичная форма
– животные 173
– человек 170, 205, 216

Солюбилизатор 471
Средства индивидуальной защиты 350
Среды
– питательные 365
– селективные 368
– хромогенные 369
Сыворотка
– диагностическая (“люм”) 394
– лечебная 264
Сывороточная единица 444

Т
Таксономия 45, 53
Тени бактериальные 310
Терапия
– патогенетическая 286
– этиотропная 272, 475
Термоциклер 480
Тест
– денитрификация 407
– желатиновый 403
– индольный 403
– каталазный 399
– нитрификация 407
– оксидазный 399
– сероводородный 404
– уреазный 405
– Фогес-Проскауэра 406
– ONPG 404
Типирование
– 16S рРНК 493
– SNP 47, 53, 492
– VNTR 493
Титрование 415
Тонзиллярная форма 184
Традиционная медицина
– бурятская 260
– калмыцкая 261
– монгольская 256
– тибетская 242
Трансальдолаза 441
Триада
– эпидемиологическая 29
– эпизоотологическая 60, 66
Тройная упаковка 361

У
Уровень биологической безопасности 327

Ф
Фагоцитоз
– дендритными клетками 144
– макрофагами 85, 178
– нейтрофилами 147
Фарингеальная форма 180
Ферментация
– углеводов и спиртов 400
– глицерина 401
Фиксация
– животных 454
– мазков 385, 463
Филогенетическое древо 55, 57
Флуоресцирующих антител метод 394

Х
Храм Линь Шон Фап Ан 266
Храм Лонг Туйен 266
Хромосома 84, 483
Хэнкина феномен 292

Ч
Чувствительность к пестицину 411
Чума верблюдов 125
Чума органов зрения

– человек 158
– чернохвостые олени 127
Чумка (головная болезнь) 197
Чумное лицо 205

Э
Эволюция 49, 52, 55
Электрофореграмма 483
Электрофорез 482
Эпидемии
– Астрахань 224
– Бомбей 264
– Вена 20
– Венеция 13, 23, 203
– Вьетнам 158, 265
– Гонконг 225
– Египет 292
– Калькутта 225
– Лондон 19
– Маньчжурия 61, 169, 181, 194
– Монголия 305
– Москва 21
– Экс-ан-Прованс 16
Эпизоотия 64, 513
IS100 элемент 85
L-форма 63, 85, 381
Pestis minor 224

SUMMARY

The monograph **"The Opera on the Plague"** by **Dr. Vladimir A. Gorshkov-Cantacuzene** considers the plague – the most dangerous bacterial infection having caused three devastating pandemics in the human history.

The author suggests to consider the subject of the study from different points: first, the bacterium as the prima in the opera (Italian: case) and its impact on history and culture; second, human fates - heroes and war criminals. The book contains numerous illustrations and clinical case descriptions; therefore, it is designed primarily for students of medical universities for profound study. It may be used as well by students of biological and veterinary universities, residents and post-graduate students, in professional training and advanced training programs for doctors and in training programs for specialists in working with pathogens of especially dangerous infections. In addition, the author presents the information in non-traditional scientific and literary way, demonstrating that medicine is both a science and an art with inherent grace and romance. The simplicity of presentation and gradual terminology complication allow a non-prepared reader to thoroughly study the subject significantly exceeding the university curriculum.

The book provides photographs reflecting the life of Kitasato Shibasaburo, a Japanese doctor and the co-discoverer of the plague pathogen; the data on traditional Tibetan medicine and unique archive documents published in the European medical literature for the first time. Brief information on the natural foci of the plague existing in the modern world is provided in the appendices.

The book is recommended as a textbook (manual) for university students by the decision of the Academic Council of the Federal Budget Institution of Science "State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology"

Gorshkov-Cantacuzene, V. A.

The Opera on the Plague. — Moscow: Moscow University Press, 2024. — 616, [8] p. — Electronic book for network distribution.

ISBN 978-5-19-012018-9 (e-book)
ISBN 978-5-19-012017-2

The book considers the plague — the most dangerous bacterial infection having caused three devastating pandemics in the human history. The author suggests to consider the subject of the study from different points: first, the bacterium as the prima in the opera (Italian: case) and its impact on history and culture; second, human fates - heroes and war criminals. The book contains numerous illustrations and clinical case descriptions; therefore, it is designed primarily for students of medical universities for profound study. It may be used as well by students of biological and veterinary universities, residents and post-graduate students, in professional training and advanced training programs for doctors and in training programs for specialists in working with pathogens of especially dangerous infections. In addition, the style of the presentation allows to recommend the book to everyone who is interested in the astonishingly dangerous world of microorganisms or is preparing to enter a medical university.

Учебное издание

Горшков-Кантакузен Владимир Александрович

Опера о чуме

учебник

Vladimir A. Gorshkov-Cantacuzéne

Un opéra sur la peste

le manuel scolaire

緩拓然　甫慈診
（カーンタークーゼーン・ヴラディミル）

ペストについてのオペラ

教科書

Электронное издание сетевого распространения

Перевод названий: АКТ I – «Монстр ночи»; АКТ II – «Жизнь»; АКТ III – «Другая сторона»

В настоящем издании использованы изображения: являющиеся общественным достоянием, принадлежащие автору, публикуемые на основании лицензии (в т. ч. открытых лицензий), переданные автору их владельцами, а также воссозданные (отреставрированные) с помощью алгоритмов искусственного интеллекта. На 1 странице обложки изображение культуры чумного микроба, выделенной Китасато Сибасабуро (по Kolle W., 1897); на 4 странице – изображение реконструкции ДНК вымершего штамма (по Bos K. I., 2016)

Макет утвержден 19.02.2024. Формат 60×90/16. Усл. печ. л. 38,5. Изд. № 12782

Издательство Московского университета

119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 15
Тел.: (495) 939-32-91; e-mail: secretary@msupress.com
https://msupress.com. Отдел реализации:
тел.: (495) 939-33-23; e-mail: zakaz@msupress.com

Чума сопровождает человечество на всём историческом пути. Она опустошала города, вселяя страх в сердца, была объектом исследований, пленяющим лучшие умы, и грозным оружием, развращающим тёмные души. Но как, появившись 20 000 лет назад, она сумела взойти на свой пьедестал? Как научилась столь элегантно обходить иммунную систему человека? О том, кто она, как безопасно с ней работать и многом другом – в этой книге!

※

La peste a accompagné l'humanité tout au long de son parcours historique. Elle a ravagé des villes, faisant froid dans le dos. C'est un objet de recherche qui captive les meilleurs esprits et une arme redoutable qui corrompt les âmes sombres. La peste est apparue il y a 20 000 ans. Mais comment est-elle arrivée sur son piédestal ? Comment a-t-elle appris à contourner si élégamment le système immunitaire humain ? Découvrez qui elle est, comment travailler avec elle en toute sécurité, et bien plus encore dans ce livre!

※

ペストは歴史を通じて人類に付きまとう。
心に恐怖を植え付けながら都市を荒廃させ、優れた知性を魅了する研究の対象となり、そして闇の魂を堕落させる恐るべき武器となった。

しかし、2万年前に現れたペストはどのようにしてこのような地位に上り詰めることができたのだろう？人間の免疫系をこれほど巧妙に回避する方法をどのようにして習得したのだろう？

ペストとは何者か、安全に作業する方法、その他様々な情報がこの一冊に！