

ности: способность к адгезии, антилизоцимная, антиинтерфероновая, каталазная и гемолитическая активность. Установлено, что маркеры патогенности присутствовали у бактерий в различных сочетаниях. Рассмотренные признаки патогенности ответственны за степень выраженности патологического процесса.

Высокая распространенность поражения тканей пародонта наряду с увеличением плотности колонизации *Staphylococcus spp.* делают возможным быстрое развитие деструктивно-воспалительных процессов в полости рта у больных, что является убедительным доказательством необходимости комплексной терапии стоматологических заболеваний, включающей в себя элиминацию стафилококковой флоры полости рта, а также мероприятия, направленные на коррекцию данной экологической ниши.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Абрамов В. Г.* Колонизация полости рта и ее влияние на лизоцим-антилизоцимные взаимоотношения в экосистеме при кариесе: Автореф. дис. канд. мед. наук. — Волгоград, 2007. — С. 14.
2. *Белобородов В. Б., Митрохин С. Д.* // Инфекции и антимикробная терапия. — 2003. — Т. 5. — № 1. — С. 4—12.
3. *Воронин В. В., Леонтьев В. К., Шестаков В. Т.* // Стоматология. — 2001. — Т. 80, № 6. — С. 15—17.

4. *Каргальцева Н. М.* // Ин-т стоматологии. — 2001. — № 1. — С. 18—21.
5. *Кафарская Л. И.* // Детские инфекции. — 2006. — Т. 5, № 1. — С. 6—11.
6. *Осиян С. А.* Эколого-микробиологическая оценка резидентного стафилококкового бактерионосительства среди детского населения: Дис. ... канд. мед. наук. — Оренбург, 2005. — С. 24—56.
7. *Поспелова С. В.* Характеристика штаммов стафилококков, изолированных при обследовании на бактерионосительство / С. В. Поспелова, Э. С. Горовиц // Проблемы и перспективы современной науки (сборник научных трудов). — 2008. — В. 2. — С. 26—31.
8. *Рабинович И. М., Баненко Г. В., Рабинович О. Ф.* // Стоматология. — 2002. — № 5. — С. 48—50.
9. *Чернуха М. Ю. и др.* Антибиотикорезистентность и возможное происхождение штаммов *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella*, выделенных от детей с дисбактериозом кишечника. — М.: ЖМЭИ, 2005. — № 5. — С. 66—70.

## Контактная информация

**Пестов Артур Юрьевич** — аспирант кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии с курсом клинической микробиологии ВолгГМУ, e-mail: [anna.panchenko@pochta.ru](mailto:anna.panchenko@pochta.ru)

УДК 57.043.615.361.01851-012

## УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ПРОЦЕССА ЛИОФИЛЬНОГО ВЫСУШИВАНИЯ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА СОВРЕМЕННОМ ОБОРУДОВАНИИ

**В. Г. Пушкар, И. В. Новицкая\*, М. Я. Кулаков, К. А. Павлова, А. М. Степурина**

*Кафедра молекулярной биологии и генетики медико-биологического факультета ВолгГМУ\*,  
Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт*

Предложена новая схема лиофильной сушки лабильных иммунобиологических и диагностических препаратов на современном оборудовании. Схема заключается в плавном понижении давления и повышении температуры в сублимационной камере по определенной программе. Предложенная технология позволяет длительно хранить высушенные препараты и полностью сохранить их активность.

*Ключевые слова:* лиофильная сушка препаратов, процесс сублимации.

## DEVELOPMENT OF THE PROCESS OF LYOPHILIZATION OF IMMUNOBIOLOGIC PREPARATIONS USING MODERN EQUIPMENT

**V. G. Pushkar, I. V. Novitskaya, M. Ya. Kulakov, K. A. Pavlova, A. M. Stepurina**

We suggested a new scheme of immunologic and diagnostic agent lyophilization using modern equipment. A freeze-drying program is based on continuous reduction of pressure and a rise in temperature in the sublimation chamber. The presented technology allows a long-term storage of dried preparations with complete preservation of their activity.

*Key words:* freeze-drying, diagnostic preparation, process of lyophilization.

Значительная часть иммунодиагностических препаратов на одном из заключительных этапов производства подвергаются лиофильному высушиванию. Этот технологический этап позволяет стабилизировать свойства препарата и многократно увеличить срок его хранения. Однако подбор па-

раметров лиофилизации в каждом конкретном случае является сложной технологической задачей. Так как этот процесс связан с изменением агрегатного состояния препарата, он напрямую влияет на его иммунологическую активность и возможность длительного хранения.

Сам процесс лиофилизации — переход связанной и свободной влаги вещества из кристаллического состояния в газообразное, минуя жидкую фазу, возможен только при определенных физических условиях (температуры и вакуума), обусловленных природой и свойствами воды. Принципы вакуум-сублимационной сушки описаны в основополагающих трудах по лиофилизации [3, 4]. Одним из основных параметров лиофилизации является скорость высушивания, которая зависит от глубины вакуума, температурного режима и времени прохождения различных этапов процесса высушивания.

Кроме того, каждый препарат имеет так называемую температуру эвтектики (кристаллизации, коллапса), которая зависит от природы, состава, концентрации и других параметров лиофилизата. Эта температура обусловлена внутренними параметрами кристаллизации льда связанной влаги препарата. В основном, для белковых иммунобиологических препаратов она не выше  $25 (\pm 5) ^\circ\text{C}$ . Есть мнение, что для тонких белковых структур нельзя превышать эту температурную границу во время процесса лиофилизации до тех пор, пока вся свободная влага не будет удалена из препарата [2].

Процесс лиофилизации проходит под вакуумом и связан с удалением (испарением) кристаллов воды (сублимацией), минуя жидкую фазу. Как известно из физики, этот процесс сопровождается понижением температуры, и чем он интенсивнее, тем сильнее охлаждение препарата. Таким образом, охлаждение препарата напрямую зависит от глубины вакуума в камере.

Существует метод замораживания продукта перед лиофилизацией без использования холодильной техники — путем помещения его в вакуум. Метод достаточно «жесткий», связан со вспениванием продукта и, как правило, ведет к снижению биологической активности продукта. Для диагностических и эритроцитарных препаратов не используется [1].

С целью компенсации явления снижения температуры во время высушивания подводится дополнительное тепло — тем или иным способом. Чаще всего это электроподогрев полок в камере сублимационной установки или естественный приток тепла из окружающей среды (радиационный метод) при отсутствии рабочей камеры, когда колбы или ампулы присоединяются к установке с помощью специальных магистральных штанг, зажимов и вакуумных рукавов и находятся снаружи. В последнем случае процесс и его скорость зависят от температуры помещения, где производится сушка.

Следует отметить, что все температурные перепады как во время подготовки к лиофилизации (замораживания), так и во время самой сушки небезразличны для препарата и его активности. Более того, именно от них (резких скачков температуры), как показывает практика, и зависит окончательный результат лиофилизации и нативность препарата (сохранность первоначальных свойств) после регидратации.

По данным литературы, замораживание продукта перед лиофилизацией должно вестись при температурах от  $-40$  до  $-60 ^\circ\text{C}$  [5].

Экспериментальным путем, после проведения научно-исследовательских и технологических изысканий было выявлено, что наиболее оптимальным режимом сублимационной сушки для эритроцитарных диагностикумов является плавное повышение температуры продукта от  $-40 ^\circ\text{C}$  (температура замораживания) до комнатной температуры  $22 (\pm 2) ^\circ\text{C}$  без всяких скачков и перепадов при постепенном снижении вакуума от 400 мк рт. ст. до 150 (то есть от 50 до 20 Па.).

Условия сублимации иммунобиологических препаратов на современном оборудовании отличаются от традиционных сублимационных установок возможностью использования режимов глубокого вакуума до 10—15 мк рт. ст. (до 1 Па) — а это на порядок выше, чем в сушках предыдущего поколения. Новые технологии позволяют значительно ускорить процесс. Однако при этом ускоренная сублимация несвязанной влаги вызывает значительное охлаждение препарата и по окончании выхода этой влаги возникает резкий скачок на графике сушки препарата — температура начинает повышаться с большой скоростью, что приводит к значительному или полному снижению иммунологической активности высушенных препаратов (рис. 1).

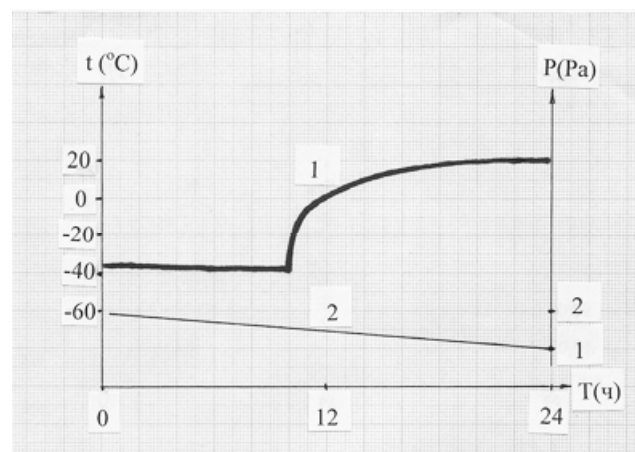


Рис. 1. График лиофилизации препарата при глубоком вакууме (1 — температура препарата; 2 — давление в камере)

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Определение параметров лиофилизации иммунодиагностических эритроцитарных препаратов для максимально возможного сохранения активности продукта после сушки и регидратации.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объекта лиофилизации был выбран эритроцитарный сапной и мелиоидозный иммуноглобулиновый диагностикум производства ФГУЗ Волгоград-НИПЧИ, который достаточно лабилен и склонен к снижению активности после лиофилизации из-за наличия нестойкой связи сывороточных иммуноглобулинов

с поверхностью эритроцитов и особенностей структуры клетки самого эритроцита.

Активность препаратов определяли в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА), согласно инструкции по применению диагностикума. Определения проводили до и после лиофилизации в трехкратных повторах.

Лиофилизацию диагностикума проводили на установке COOLSAFE -100-9 фирмы «SCANLAF» (Дания) с вакуумным насосом RZ-1 фирмы «VACUUBRAND».

Лиофильная установка позволяла проводить лиофилизацию по специальной программе, состоящей из 10 ступеней, и была дополнительно оборудована блоком автоматического регулирования вакуума производства фирмы-изготовителя.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований было установлено следующее.

1. Объект лиофилизации был выбран обоснованно, так как любые, даже незначительные отклонения от оптимального режима вызывали его частичную (на 2—3 лунки и более) потерю активности или полную непригодность из-за нарушения работы контролей в реакции РНГА. Об этом же свидетельствует тот факт, что, несмотря на многочисленные изыскания, до сих пор не найден способ лиофилизации донорской крови, позволяющий полноценно использовать ее после регидратации.

2. Для сохранения исходной активности препарата требуется плавное, без скачков, изменение температуры от температуры эвтектики препарата или несколько ниже (в нашем случае это  $-31\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) до комнатной температуры  $22 (\pm 2)\text{ }^{\circ}\text{C}$ , причем время выхода препарата на температуру  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  не должно быть менее 12 часов.

3. Избежать потери активности препарата можно лишь одним путем — снижением интенсивности сублимации. Для этого вакуум в камере установки необходимо уменьшить до 30—35 Па на первоначальном этапе сушки, пока температура не пройдет порог эвтектики. Далее вакуум можно постепенно увеличивать. Для обеспечения такого режима сушки на используемой установке нами была разработана программа (табл.).

### Программа обеспечения режима сушки

№ п/п	Время, ч	Температура, $^{\circ}\text{C}$	Давление, (Па)
1	8	-15	30
2	2	-10	25
3	2	-8	20
4	2	-5	10
5	2	0	10
6	2	5	8
7	2	10	6
8	2	15	4
9	2	20	3
10	3	22	3

При этом обеспечивался режим плавного подъема температуры препарата на всем протяжении лиофилизации и переход через  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  за время около 12 ч (рис. 2). Следует отметить, что задаваемая температура полки значительно отличается от температуры препарата из-за испарения кристаллов льда, особенно на первых стадиях лиофилизации, когда препарат содержит большое количество несвязанной влаги. Для контроля истинной картины лиофилизации датчик температуры был размещен в препарате.

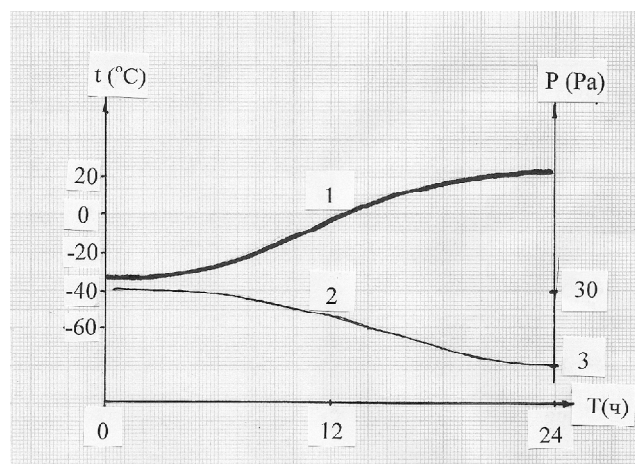


Рис 2. График лиофилизации препарата при умеренном вакууме (1 — температура препарата; 2 — давление в камере)

Чувствительность высушенных препаратов в РНГА не изменялась после сушки и составляла, как и перед лиофилизацией  $4 \cdot 10^5$ — $8 \cdot 10^5$  м.т. / мл, при наличии четких контролей.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработан режим бережной лиофилизации лабильных эритроцитарных диагностикумов, позволяющий использовать его для производства медицинских иммунобиологических препаратов на современном сублимационном оборудовании.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Антипов С. Т., Игнатов В. Е., Эйхаб Хасан, Востриков С. В., Шахов С. В. Способ циклической вакуум-сублимационной сушки. Патент RU №2119625 С1 МПК 6 F26B5/06, опубликовано: 27.09.1998.
2. Бердоносков С. С., Горелик А. Г. // Химическая промышленность. — 1993. — № 8. — С. 391—398.
3. Герхардт Ф. Методы общей бактериологии. — Т. 1, М.: Мир, 1984. — 1272 с.
4. Камовников Б. П., Малков Л. С., Воскобойников В. А. Вакуум-сублимационная сушка пищевых продуктов (Основы теории, расчет и оптимизация). — М.: Агропромиздат, 1985. — 288 с.
5. Шалаев Е. Ю., Франкс Ф., Вараксин Н. А., Рукавишников М. Ю. Способ лиофильной сушки биопрепарата. Пат. RU 2111426, F26 b5/06, опубл. 20.05.1998.

## Контактная информация

**Пушкарь Владимир Георгиевич** — к. б. н.,  
старший научный сотрудник ФГУЗ ВолгоградНИПЧИ

Роспотребнадзора лаборатории конструирования  
и производственного изготовления медицин-  
ских иммунобиологических препаратов, e-mail:  
gunner50@mail.ru

УДК 614.2:616-002.5-084

## СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ СИСТЕМЫ ОРГАНИЗАЦИИ МЕРОПРИЯТИЙ ПО СВОЕВРЕМЕННОМУ ВЫЯВЛЕНИЮ БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ В МОСКВЕ

*Е. Я. Кочеткова, П. П. Сельцовский*

*Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом  
Департамента здравоохранения*

За 12-летний период исследования (1997—2008 гг.) дана оценка динамики основных статистических показателей и их характеристика по критериям эффективности своевременного выявления больных туберкулезом органов дыхания (ТОД) в лечебно-профилактических учреждениях Москвы, в том числе в 16 противотуберкулезных диспансерах (ПТД).

Основным методом выявления туберкулеза среди взрослых является лучевой (рентгено-флюорографический). Для оценки результатов выявления больных ТОД предложен комплекс критериев как внешних (показатель заболеваемости ТОД и ее клиническая структура, доли больных, умерших от туберкулеза, неизвестных диспансеру и в течение первого года наблюдения), так и внутренних (соответствие обследованного рентгено-флюорографически населения подлежащим осмотру лицам в абсолютных числах, процент выполнения плана профилактических осмотров населения и его охват флюорографическими осмотрами, доля групп риска по туберкулезу среди населения и их охват рентгено-флюорографическими осмотрами, доля декретированных контингентов среди населения и их охват рентгено-флюорографическими осмотрами).

*Ключевые слова:* лучевой метод выявления туберкулеза, профилактические рентгено-флюорографические осмотры, внешние и внутренние критерии оценки эффективности выявления больных ТОД.

## IMPROVING THE ORGANIZATION OF TIMELY DETECTION OF PULMONARY TB CASES IN MOSCOW CITY

*E. Ya. Kochetkova, P. P. Seltsovsky*

During the 12-year study (1997—2008) we evaluated the dynamics of major statistical parameters and described them using the criteria of effectiveness of timely detection of pulmonary TB cases by therapeutic-and-prophylactic institutions of Moscow, including 16 TB dispensaries.

The principal method of TB detection among adults was radiology (X-ray, fluorography). To evaluate the results of case detection we proposed a complex of criteria, both external (incidence and clinical structure of pulmonary TB, proportions of patients, who died from TB, unknown to dispensaries or during the first year of follow-up), and internal ones (concordance between cases subject to X-ray/fluorography screening to the absolute amount of examined patients, the percentage of implementation of preventive screening plan and the population coverage by fluorography, the proportion of TB risk groups among the population and their coverage by X-ray/fluorography screening, the proportion of targeted populations and their coverage by X-ray/fluorography).

*Key words:* radiology method of TB detection, preventive X-ray/fluorography screening, external and internal criteria for evaluation of pulmonary TB case detection effectiveness.

Своевременное выявление больных туберкулезом в учреждениях общей лечебной сети является ведущим направлением противотуберкулезной работы в Москве, оказывающим положительное влияние на эпидемиологическую ситуацию по туберкулезу в городе и эффективность лечения больных туберкулезом [4]. Постановлением Правительства Российской Федерации от 25.12.2001 г. № 892 [5] определены группы населения, подлежащие обследованию с целью выявления туберкулеза независимо от наличия или отсутствия признаков заболевания. Однако доля фак-

торов риска и их структура имеют свои особенности в каждом регионе, поэтому необходимо уточнение принципа формирования групп риска на каждой конкретной территории [2, 1].

В последние годы возможности выявления и диагностики патологии органов дыхания существенно возросли в связи с появлением современной цифровой рентгенодиагностической техники, и по-прежнему для своевременного выявления заболевания есть только один метод — лучевое исследование органов грудной клетки [3].