ГУ Институт эпидемиологии и инфекционных болезней имени академика Л.В.Громашевского АМН Украины

В.П.Жалко-Титаренко

ЭПИДИНАМИКА

(Динамика популяций возбудителей в инфекционном и эпидемическом процессе)

Киев
2015

Содержание

Стр.

Пролог……3
Часть 1. Исходные положения Эпидинамики 6
Глава 1 Общие закономерности генеза популяций…… 6
Глава 2 Биопатогенность и её измерение……14
Глава 3 Моделирование инфекции……...18
Часть 2. Микропопуляция… ……26
Глава 4 Inoculum……27
Глава 5 Параметры начальной фазы заражения……38
Часть 3. От микропопуляции к макропопуляции …… 45
Глава 6 Рост популяции возбудителя в первичном очаге инокуляции ……46
Глава 7 Теория инфектонов……56
Глава 8 Диссеминация тканевых популяционных циклов возбудителей инфекции……60
Глава 9 Генез и развитие макропопуляции возбудителя в условиях применения антибиотиков и антимикробного действия иммунитета…… 64
Часть 4. Мегапопуляции……69.
Глава 10 Ориентировочные оценки мегапопуляции шигелл Зонне……...70
Глава 11 Закономерности аэрозольного механизма передачи и его уязвимость…74
Глава 12 Очаговая структура экспираторно-аэрозольного общения городов…...90
Начало вместо эпилога (эссе)…… 96
Цитированная литература……103
……

Ввиду краткости жизни мы не можем себе позволить роскошь тратить время на задачи, которые не ведут к новым результатам
Л.Ландау

*ПРОЛ*ОГ

Книга пишется для читателя. Но не каждому это удаётся сразу. В этой горькой истине автору пришлось убедиться, когда он прочитал первый вариант своей рукописи, написанный ещё в 2009 г.

Кто же тот смельчак, который отважится прочесть последний вариант «Эпидинамики»? Автор видит в нём юное лицо студента медицинской академии, пытливого микробиолога, думающего эпидемиолога и начинающего учёного. Естественно, видит он среди своих читателей и лучшую (после женщин, конечно) часть человечества – учёных. Тех людей, которые создали современную цивилизацию от авторучек до космических кораблей. Они жрецы великой богини – Науки. Для автора, посвятившего Ей всю свою жизнь, понимание учёных особенно важно. Но тут кроется опасность, потому что, как сказал Эйнштейн: «Единственное что мешает мне учиться – это моё образование». А ведь каждая научная концепция или книга как раз и создается для того, чтобы научиться чему-нибудь малознакомому.

Но, прежде всего - что скрывается под наименованием «Эпидинамика»? Начнём с последней части термина. Динамика (от греч. δινάμοσ – сила) это процесс изменения объекта под действием причины. Процесс изменения это последовательность состояний. Таким образом, динамика объекта это последовательность его состояний под действием некоего импульса или причины. Упрощая - это отношения типа «Доза – эффект»

В медицине причина заключена в представлении об этиологии. Этиологией инфекционной болезни является возбудитель – вирус или микроорганизм, обусловивший заражение и болезнь. «Этиологическим» фактором эпидемии является тот же возбудитель, но уже в ином антураже – в виде источника инфекции (больного или носителя) и ещё путей и факторов передачи, без которых никакая эпидемия не состоится. Специальная область знания, которая призвана найти зависимости между свойствами любых возбудителей и последовательностью состояний: возбудитель – заражение- болезнь – источник инфекции - передача - эпидемия названа нами «Эпидинамикой».

Почему «эпи»? Потому что конечной формой последовательности этих состояний является эпидемия.

Почему «- динамика»? Потому что последовательность этих состояний хотя и понятна каждому медику, но в тоже время зависимости между ними определены крайне недостаточно. Например, зависимость течения инфекционного процесса от заражающей дозы возбудителей остаётся предметом умозрительных предположений, а не точной теории. Активность капельного механизма передачи никак не увязана с особенностями закрытых помещений, в которых этот механизм только и может реализоваться. Также инфраструктура и жизненный уклад городов не имеет точных критериев связи с распространением эпидемий капельных инфекций. Все эти зависимости прямо или косвенно связаны с тем, сколько было «причинного фактора» и к какому развитию это привело? А это по определению является предметом динамики, но какой? Конечно не механической, не термодинамической, не электродинамической, а совсем иной – той, что связана с возбудителями,

инфекционным и эпидемическим процессом, с санитарно-гигиеническими науками. Это и есть предмет Эпидинамики, зачатки которой автор дерзнул изложить в этой книге.

Такой комплексный подход в сознании автора был заложен основателем научной эпидемиологии академиком Львом Васильевичем Громашевским, который считал, что эпидемиология объединяет в себе учение о возбудителе, учение об инфекции, санитарно-гигиенические дисциплины и их результирующее следствие – собственно эпидемический процесс. Не будучи эпидемиологом, автор, как профессиональный микробиолог, оказался перед дилеммой – назвать свой труд либо «микробиологической динамикой» и тогда упустить обобщающий смысл своего труда, либо назвать его «динамикой инфекционного и эпидемического процесса» потому что этому он посвятил свой путь в науке. Присмотревшись к уже упомянутым «динамикам», автор пришёл к амбициозному выводу, что его труд не вкладывается ни в одно из них. И, следуя мысли Л.В. Громашевского, его следует назвать «Эпидинамикой», учитывая, что греческая приставка «эпи» в сложных словах означает «на», «над», а эпидемический процесс воплощает в себе совокупность микробиологии, инфектологии, гигиены и собственно эпидемического процесса.

Эпидинамика – имя собственное вновь сформулированного научного направления. Пока его не начали ругать и цитировать, автор просит извинения за то, что будет писать этот термин, причем, только в данном труде, с большой буквы.

Посвятив себя этому не простому делу, автор попал в щекотливую ситуацию, когда не было методик, инструментального и аппаратурного обеспечения, а главное - не было идей и алгоритмов решения. Многое пришлось создавать заново. Что-то удалось, что-то не очень, что-то не удалось вообще. Такова жизнь. И всё же контуры Эпидинамики сложились в общую последовательную картину, которая отражена в этой книге.

Но здесь Автор немного лукавит, так как Эпидинамика не сама по себе складывалась в последовательную картину. Этому предшествовал определённый замысел. Как писал Луи Пастер: «Ничто не даётся без предвзятой идеи», и далее - «Предвзятые идеи, подвергнутые строгому контролю опыта, представляют собой оживляющее пламя наблюдательных наук». Такой предвзятой идеей была уверенность в том, что все явления инфекционного и эпидемического процесса построены по точным законам динамики популяций. Соответствующие законы прямо или косвенно связаны с изменениями численности возбудителей. Их приходилось записывать формулами и уравнениями.

Эта роковая необходимость была трудна автору, и будет трудной читателю. Поэтому автор берёт на себя обязательство во всех местах, где без формул не обойтись, дополнять их велеречивыми толкованиями, рискуя навлечь на себя гнев математически подготовленных экспертов. Впрочем, для читателя есть ещё и такой выход – без дрожи, посмотрев на формулу, и не штурмуя её, перейти к дальнейшему тексту. То есть поступить подобно тому, как в современной войне танковые армии, прорывая фронт, обходят очаги сопротивления и достигают намеченных целей. К сожалению, при таком подходе можно упустить главное, - что на каждом этапе нападения микробов на организм, происходит перераспределение микробных численностей, и только от этого зависит прогрессирование инфекции.

Поэтому Эпидинамика строилась не как описательная, а как точная наука. Во-первых, это выразилось в стремлении к точному формулированию

понятий, определений, следствий и законов. Во-вторых, в Эпидинамике вводятся новые величины и измерения. И, в-третьих, в Эпидинамике согласовано применяется экспериментальное и теоретическое, в том числе, математическое моделирование. Согласованность состоит в том, что эксперимент задавался теоретической гипотезой. А так как гипотезы черпались не только из литературы, но и из того, что приходило в голову автору, ему пришлось расплачиваться созданием собственных методов и даже аппаратуры.

Впрочем, здесь автор далеко не оригинален. Пионерские исследования всегда сопровождались изобретением и построением уникальных методов, установок и приборов, которые выпускались не приборостроительной промышленностью, а теми, кто на это решался. Получилась из этих изысканий точная наука или не получилась, автору судить не дано. Но автор честно признаётся в том, что с самого начала его исследований он искал и создавал методы и подходы к построению точной теории инфекционного и эпидемического процесса.

Прочтите или перелистайте эту книгу. Если она вас оттолкнёт или наоборот удивит, - будем считать Эпидинамику состоявшейся. Если вы останетесь равнодушны, тогда забудьте её вместе с автором. Уж такова жизнь…

Часть 1. ИСХОДНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ ЭПИДИНАМИКИ

Наука, состоит в таком отборе фактов,
который позволял бы выводить
общие законы и заключения.
Ч. Дарвин

Глава 1

Общие закономерности генеза популяций

Теория популяций слагается в основном из 2-х фундаментальных направлений – генетики популяций и динамики популяций. Первое направление исследует распределение вариаций генотипов в видовой популяции и связанные с этим микроэволюционные события. Второе направление (динамика популяций) рассматривает проблемы роста, выживания и вымирания популяций под влиянием среды обитания, а также процессы миграции и конкурентные отношения с другими видами (межвидовая борьба).

Второе направление имеет прямое отношение к Эпидинамике. Жизнь возбудителей в организме больного не может не подчиняться всеобщим популяционным закономерностям. Из них определяющее значение имеет способность популяции к миграции и захвату новых ареалов, при исчерпании ресурсов прежних. В теле больного эта способность проявляется в том, что с начала инфекционного процесса и на протяжении его развития одна часть возбудителей покидает очаг инокуляции и диссеминирует в организме, а другая часть с так называемыми «факторами передачи», мигрирует во внешнюю среду для захвата нового ареала, то есть, заражения очередной жертвы. (У Л.В.Громашевского эта необходимость сформулирована в виде «основного закона паразитизма».)

1.1. Микропопуляции, макропопуляции и мегапопуляции

Динамика таких процессов обусловливает развитие популяций в разных масштабах. Их можно представить в форме иерархической системы. Её основу составляет инфекционный процесс, понимаемый как рост и развитие организменной или «макропопуляции» возбудителей. В свою очередь организменная популяция состоит из множества «микропопуляций» - очагов размножения микроорганизмов, поразивших группы клеток и участки тканей организма. Кроме организменной макропопуляции, необходимо выделять ещё уровень «мегапопуляций», обусловливающий эпидемию, т.е. совокупность случаев инфекции в очагах инфекции, населённых пунктах, районах, губерниях и целых странах. Соответственно могут выделяться различные масштабы «мегапопуляций» (очаговая, городская, территориальная, глобальная и т.п.)

Однако жизнь возбудителей задаётся микропопуляциями, так как именно они формируются в живых тканях организма изначально и потому составляют основной объект изучения Эпидинамики.

1.2. Виды культивирования и типы роста микробных популяций.

Любая популяция выживает за счёт того, что её размножение компенсирует потери от негативных воздействий среды. Поэтому охарактеризовать размножение – значит оценить самое важное биологическое свойство вида. А размножение отражено в *динамике, – зависимости нарастания численности от скорости размножения.* Поэтому выживание видов и популяций зависит от динамики размножения.

Самые точные и полные данные о жизни и выживании популяций можно получить лишь на микробиологических объектах. Потому-то законы популяционной микробиологии имеют фундаментальное значение для общей теории популяций. Посеяв утром буквально несколько клеток E. coli в пробирку с бульоном, можно к следующему дню воспроизвести полный цикл развития популяции, который для высших растений и животных потребовал бы многих месяцев и лет, либо вообще оказался за гранью доступности. С тем же успехом можно получить данные по росту популяции любого другого вида микроорганизмов, например, Staphylococcus epidermidis и остальных (см. табл..1.1).

Таблица 1.1
Рост бактериальной популяции на протяжении 48 часов

Время В часах	Количество жизнеспособных клеток в 1 мл в миллионах	
	E. coli	S. Epidermidis
0	0,0003	0,0003
2	0,012	0,002
4	10,0	0,125
8	1200,0	31,0
10	1500,0	100,0
16	1300,0	250,0
24	1320,0	330,0
48	1200,0	340,0

Не трудно заметить, что E.coli достигает максимальной численности уже к 10 часу, а стафилококк только через 24 часа. По сравнению с E. coli скорость размножения у стафилококка, на первый взгляд, явно меньше. Подобные табличные данные можно получить по любому микробному виду или штамму. И каждый из них будет отличаться по скорости размножения и предельной (максимальной) численности, которой он может достичь. В микробиологии предельную (максимальную) численность принято называть «*М-концентрацией*» (O.Bail, 1929) или обозначать алгебраическим символом N_{max}. Достижение М-концентрации означает, что в среде обитания исчерпаны питательные и дыхательные ресурсы, возникает т. наз. «эффект тесноты». При М-концентрации рост прекращается, переходит в «стационарную фазу», а затем в фазу. «ускорения гибели».

В дикой природе размножение любого биологического вида тоже не беспредельно и также характеризуется определёнными максимумами особей, что равнозначно М-концентрации. Максимумы популяций в дикой природе также зависят от пищевых ресурсов и «тесноты». Когда ресурсы исчерпываются, прекращается размножение, увеличивается смертность и рост популяции приостанавливается. «Теснота» среди животных и растений приводит к активизации инфекций, факторов внутривидовой борьбы. Зачастую, популяция вынуждена мигрировать в поисках нового более обеспеченного ареала. Её выживание целиком зависит от способности перенести такую миграцию.

Та же закономерность присуща возбудителям эпидемических инфекций. Исчерпав ресурс больного организма, они вынуждены мигрировать к следующей жертве, используя патогенетические механизмы инфекции и сопутствующие этому факторы и пути передачи. В этом заключается биологический смысл и значение механизма передачи в теории эпидемического процесса Л.В.Громашевского.

В условиях микробиологической лаборатории судьба микробной культуры по сути такая же. Разница лишь в том, что и культивирование, и «миграция» искусственны и

осуществляются человеческими руками. В приведенном примере роста E. coli и S. epidermidis, после достижения М-концентрации в пробирках с бульоном, культуру вновь пересевают, и так продолжается до тех пор, пока она необходима. Поэтому такой тип роста в популяционной микробиологии выделяется в особую категорию т.н. «периодической культуры».

Кроме периодической, существует ещё заимствованный из практики культивирования растений, метод «проточной культуры» (Rogers L., Whiter E.O. 1930). В проточной культуре, за счёт непрерывного поступления питательной среды и удаления избытка особей, поддерживается постоянная концентрация, которая может быть даже выше М-концентрации периодической культуры. Проточные культуры используются для аналитических целей, а также в крупномасштабном микробиологическом производстве.

Третий тип роста микробных популяций - агаровая культура. Рост на плотных питательных средах с образованием колоний, впервые наблюдался Р.Кохом, которому наука обязана этим замечательным открытием и методом. Особенность колоний состоит в том, что чем они старше, тем больше в них отмерших микробных тел. Смыв такого микробного материала вообще может содержать подавляющую долю мёртвых микробов. Давно показано, что форма колоний зависит от того, как делятся клетки – вдоль, поперёк, путём ветвления и т.д. Поэтому форма колоний широко используется в микробиологическом диагнозе.

В последнее десятилетие много внимания уделяется «биоплёнкам» - обрастанию микробами подводной поверхности суден, различных материалов, органических остатков, очагов повреждения в органах и тканях организма, инструментов инвазивного медицинского вмешательства и т. п. Биоплёнки – форма жизни микробных видов в природных условиях. Формирование биоплёнок обусловлено двумя свойствами микробов. Первое – способностью выделять субстанции типа экзополисахаридов, образующих матрикс - подложку и межклеточную прослойку биоплёнки. Это свойство обеспечивает микроорганизмам способность к адгезии (прикреплению) на любых гидрофильных поверхностях и сохранение компактности обрастания. Второе, - способность к клеточному делению. Те же свойства обусловливают искусственную форму жизни микробных популяций – колонии на агаре. Но биоплёнки отличаются от агаровых колоний направлением поступления питательных субстратов. У агаровых колоний они поступают из подлежащего слоя, а у биоплёнок - снаружи. Поэтому в биоплёнках наиболее активны наружные и периферические клеточные пласты, а внутри располагаются менее активные, персистирующие формы и мёртвые клетки. За их счёт возникают канальцы и прочие бесструктурные образования.[1, 2] В агаровых колониях распределение активных клеток обратное – снаружи больше отмирающих, а в подлежащем слое превалируют активно размножающиеся. Однако эти отличия относительны, о чём недвусмысленно свидетельствуют некоторые авторы.[3]

Изучение биоплёнок показало, что их формирование не хаотично, регулируется «Quorum Sensing» - сигнальными молекулами «тесноты», преимущественно бактериоцинами, ферментами, токсинами и другими продуктами выделения микробных клеток. Фактически это те продукты, которые тормозят размножение в периодической культуре по мере приближения к М-концентрации.

Увлечение исследователей биоплёнками иногда приводит к курьёзам. В литературе, например, можно встретить утверждение, что в толстом кишечнике человека микробная биоплёнка насчитывает 10^{16} бактериальных клеток. Этот абсурд не может извинить даже присущая биологам нелюбовь к арифметике. Ведь при перерасчёте указанное число бактериальных клеток равносильно 12,5 литрам цельного клеточного вещества, для производства которого требуется несколько тонн жидкой питательной среды. Даже для диплодока это многовато, не говоря уже о человеке…

Любая научная дефиниция должна быть однозначно сформулирована. В формулировке CDC биоплёнки - это форма группового существования микроорганизмов, покрытых экзополимерной оболочкой, которые образовались на природных и искусственных поверхностях (цит. по А.Г. Салманову и соавт.[2]). Определение некорректно, так как под ним может подразумеваться даже центрифугат жидкой микробной культуры. Удачнее определение, данное R.M.Donlan and J.W.Costerton [4]: биоплёнки – это микробное сообщество, состоящее из клеток, плотно прикреплённых к субстрату, поверхности, или друг к другу, заключённые в матрицу внеклеточных полимерных субстанций, продуцирующих и проявляющих изменённый фенотип в соответствии с уровнем роста и транскрипции генов. Положительной чертой определения является то, что в нём даётся морфологический критерий, который ставится в зависимость от роста популяции микробов. Однако в определение введены критерии, которые далеко не всегда можно увидеть под микроскопом: заключённость в матрицу, внеклеточные полимерные субстанции, и явно необязательное изменение фенотипа, тем более, генетически обусловленное.

Основываясь на этом, мы предлагаем следующий вариант определения: *биоплёнки - это результат обрастания поверхности прикрепившихся к ней микроорганизмов, что проявляется в их плотном расположении, обусловленном клеточным делением и выделяемого ими связующего вещества – матрикса.* Данное определение позволяет диагностировать возникновение биоплёнки уже на самых ранних стадиях, когда разрознённые островки плотно расположенных микробов сигнализируют о начальной стадии её роста.

Совершенно иным является рост возбудителей эпидемических болезней человека и животных. Закономерности такого роста долгое время были не известны вплоть до начала 80–х годов минувшего столетия, когда был описан «тканевой популяционный цикл возбудителя» (термин В..Г.Петровской). Тканевой популяционный цикл - это самая минимальная форма микробиологического процесса в тканях организма, своего рода атом инфекционного процесса. Разветвлённая цепь таких циклов формирует целостный инфекционный процесс. Пионерские разработки этого подхода были проведены нами совместно с В.М. Бондаренко, и академиком АМН СССР В.Н.Покровским, при негласном участии В.Г.Петровской [5,6,7,8,9]. Было установлено, что рост возбудителей в инфекционном процессе развивается на основе общих законов развития микробных популяций, излагаемых ниже.

1.3. Закономерности роста микропопуляции in vitro

. Если данные, приведенные в табл. 1.1 перенести на график, мы получим две S-образные кривые разной высоты и наклона. Таблица и график (рис.1.1) отражают результаты только по штаммам двух видов. По любому другому виду или штамму микроорганизмов можно получить аналогичные графики, которые будут отличаться только высотой и наклоном S-образной кривой. Не трудно догадаться, что за внешним сходством кроется некоторый общий закон, порождающий именно такую S- образную форму, а, скажем, не прямую или ломаную линию.

Значит ли это, что, заподозрив существование общего закона, мы уже достигли предела знания и можем декларировать существование закономерной S-образной динамики популяционного роста? Ведь она «закономерно» повторяется в тысячах других экспериментов и наблюдений!

Однако, этого делать нельзя, потому что изгиб в первом (восходящем) колене кривой, и противоположный ему изгиб второго колена (фаза замедления) имеют свою причину и механизм. Ведь в форме и масштабах кривой отражается основное биологическое свойство микроба – изменение его репродуктивного потенциала. И это

отражение имеет смысл закона, так как S-образная форма кривой повторяется у всех растущих популяций не только бактериальной природы.

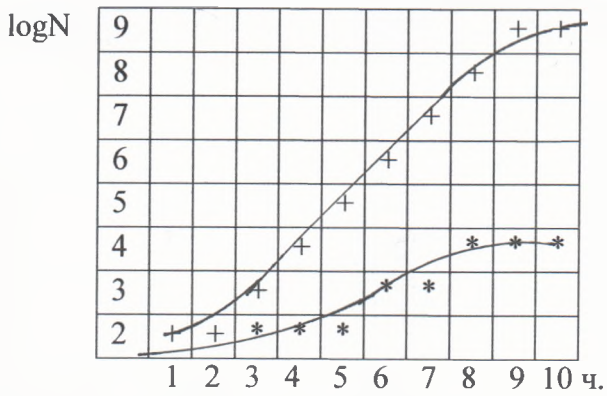

Рис.1.1. Рост популяции E.coli (+) и S. epidermidis (*)
По вертикали log N, по горизонтали – время в часах

Если пройти мимо такого закона – значит потерять возможность управлять ростом и развитием популяции в любых средах, в промышленной микробиологии и особенно в организме. Познание закона роста популяций, в конечном счёте, сводится к отысканию *вида или формы зависимости* (то есть математической записи) между стартовой численностью популяции, скоростью размножения и длительностью процесса. Первая запись вида зависимости между численностью популяции и скоростью размножения связана с именем П.Ферхюльста (1832).

1.4. Первый закон Ферхюльста. Исходя из самоочевидного положения, что прирост популяции (dn) за приращение времени (dt) пропорционален численности родительских организмов n и скорости репродукции μ_{max}, П.Ферхюльст выразил это в виде дифференциального уравнения:

$$\frac{dn}{dt} = \mu_{max} \cdot n \qquad (1)$$

Уравнение (1) является записью первого закона генеза популяции. Его вербальную (словесную) формулировку можно было бы выразить так: *в любой момент времени численность популяции определяется скоростью размножения, начальной численностью микробов и длительностью процесса.*

Параметр времени в теории популяций (как и в жизни) играет важную роль оператора сложных процессов, неподдающихся подробному описанию. Например, характеризуя рост популяции, невозможно описать при этом рост каждой микробной клетки и другие интересные подробности. Но можно ввести время генерации - g, являющееся, по сути, временем жизни микробной клетки от зарождения до следующего деления на 2 дочерние.

Время генерации -g связано со скоростью репродукции - μ соотношением:

$$g = \frac{\ln 2}{\mu} \qquad (2)$$

В системе двоичных логарифмов: $\mu = \frac{\log_2 2}{g} = \frac{1}{g}$ (3)

Из (3) следует, что параметр μ действительно имеет размерность скорости, т.е. 1/t или (t^{-1}). Решением уравнения (1) является формула (4), позволяющая оценить численность растущей популяции в любой момент времени (t) при отсутствии каких-либо препятствий со стороны среды обитания (т.н. «нелимитированный» рост). Уравнение воспроизводит только первый изгиб S-образной кривой, т.е. начальную фазу роста, когда скорость репродукции максимальна ($\mu = \mu_{max}$) :

$$n_t = n_0 \cdot e^{\mu t} \qquad (4)$$

Достаточно из опыта найти численное значение μ_{max} микробного штамма в данной жидкой среде и, в пределах начальной фазы роста, зная сколько микробов было вначале (n_0), по формуле (4) можно сразу рассчитать, число подрастающих микробов(n_t). Таким образом, μ_{max} является важнейшей характеристической – *биологической константой* микробного вида (или штамма) для данной среды обитания. Но эта константа вместе со значением времени входит в показатель степени иррационального числа e = 2,71828,... Поэтому выражение (4) является «степенной» или что тоже «экспоненциальной» функцией. Отсюда ещё одна формулировка первого закона Ферхюльста гласит: *нелимитированный рост популяции подчиняется экспоненциальному закону.* Так как вычисления степенных функций нуждается в логарифмировании, это послужило поводом ввести термин «логарифмическая фаза».

Первый закон Ферхюльста, и уравнения (1 - 4) вступают в силу с конца латентной фазы. Область применения первого закона ограничена начальным периодом роста. Когда в среде появляются лимитирующее факторы, (субстанции обусловливающие Quorum sencing, исчерпание некоторых субстратов и всё возрастающая численность), скорость размножения начинает снижаться, а рассчитанная по формуле (4) кривая отрывается от реального процесса, и всё круче уходит вверх. Суммарное влияние лимитирующих факторов на рост популяции были учтены во втором законе Ферхюльста.

1.5. Второй закон генеза популяции Ферхюльста. В запись первого закона был введен «коэффициент замедления» - r:

$$\frac{dn}{dt} = (\mu_{max} - r\,n)\,n \qquad (5)$$

Уравнение (5) является записью закона «лимитированного роста», моделирующего весь процесс с самого начала до момента достижения М-концентрации.

Обычно кривую роста разные авторы (С.М. Жан-Пушкина, И.М.Великанов[28,32] и др.) разбивают на этапы. Вначале это «латентная», «начальная» или «нижняя» стационарная» фаза, при которой нет прироста популяции. Далее наступает «лаг-фаза» или фаза «положительного ускорения». Её сменяет период «логарифмической» или «экспоненциальной» фазы роста, при которой скорость размножения μ_{max} достигает наибольшей величины. Следующий этап - «фаза отрицательного ускорения» (замедления) роста. Она завершается на уровне «максимальной» или «верхней стационарной фазы», при которой приращение популяции приостанавливается, а её численность достигает значения М-концентрации. Затем наступает «фаза ускорения отмирания или гибели».

Уравнение (5) описывает процесс в интервале между нижней и верхней стационарной фазой. Фаза ускорения гибели уравнением (5) не описывается. Уравнение лимитированного роста (5) могло бы остаться отвлечённым математическим экзерсисом, если бы коэффициент замедления не был сформулирован как соотношение численности популяции (n) в любой момент времени (t) с определяемой в опыте М-концентрации - N_{max}:

$$\frac{dn}{dt} = \mu_{max} \cdot n - \mu_{max} \frac{n^2}{N_{max}} \qquad (6)$$

Опыт показал, что уравнение (6) хорошо описывает динамику роста культуры в жидкой питательной среде. Построенная на его основе теоретическая S-образная (т.н. логистическая) кривая не даёт значимых расхождений с экспериментальными данными. Её форма подобна рисунку 1.1. Вербальная формулировка второго закона Ферхюльста: *скорость лимитированного роста популяции обратно пропорциональна её численности.*

Поскольку жизнь любого микробного и немикробного вида состоит из периодов размножения и захвата новых ареалов, её всегда можно представить как последовательную цепь разновеликих «периодических культур». Поэтому второй закон Ферхюльста является одним из универсальных биологических законов.

1.6. Закон субстратной обусловленности популяционного генеза Ж. Моно (1942).

Как известно, замедление роста происходит от недостатка питательных субстратов и кислорода. Достаточно начать аэрировать среду культивирования и добавлять необходимые питательные субстраты, как рост возобновляется. В результате М-концентрация может возрасти в несколько раз, но, в конце концов, всё равно достигнет своего предела. Это заставило Ж. Моно [14,15] искать зависимость между скоростью размножения μ и количеством субстрата s. Усвоение каждого субстрата зависит от его природы, которую характеризует особый параметр - «субстратная константа» K_S. Несмотря на скромную позицию в знаменателе формулы, величина K_S имеет определяющее значение. Зависимость имеет вид:

$$\mu = \mu_{max} \frac{s}{s + K_s} \qquad (7)$$

где s – концентрация субстрата

Вербальная формулировка закона Моно: *Скорость размножения популяции прямо пропорциональна количеству субстрата и обратно пропорциональна субстратной константе*

1.7. Кинетический закон генеза популяции.

Использование уравнений Ферхюльста, а также Моно не всегда доступно, а для характеристики роста микроорганизмов в тканях организма, к сожалению, вообще невозможно. Причин здесь две. Во-первых, ткани организма, в отличие от бульона, - несплошная среда. Во-вторых, питательная характеристика тканей организма не поддается такой оценке, как этого требует уравнение (7). В связи с этим мы предложили уравнение кинетики роста популяции [9] , которое лишено этих недостатков. Уравнение основано на легко определимых параметрах – «полупериоде» (времени достижения половины М-концентрации) и N_{max}:

$$N_{max} = n_t \{1 + \exp[-\mu_{max}(t - \theta)]\} \qquad (8)$$

где: θ - «полупериод» или время достижения популяцией половины М-концентрации. Символ **exp** означает число e, в степени, следующей за ним записи в квадратных скобках. Уравнение (8) отличается тем, что не нуждается в субстратных константах (см. далее 1.5.), а очень важный параметр - μ_{max} вычисляется по формуле, предложенной нашим коллегой Р.Барлосом, по любым двум равноотстоящим по времени значениям n_1 и n_2:

$$\mu_{\max} = \frac{\ln\left(\frac{N_{\max}}{n_1} - 1\right) - \left(\frac{N_{\max}}{n_2} - 1\right)}{t_2 - t_1} \qquad (9)$$

Это соотношение вообще снимает проблему определения $\mu_{\max}$, которую ранее нужно было определять только в самом начале роста. Формула Р.Барлоса (9) позволяет определить этот фундаментальный параметр на любом этапе репродукции популяции, что особенно ценно при исследовании генеза возбудителя в живых тканях организма. Вербальная формулировка кинетического закона: *рост популяции в любых жидких и полужидки средах, в том числе - организме, определяется триадой параметров: скоростью репродукции в ткани, М-концентрацией, и полупериодом её достижения по уравнению (8).*

Следующая выведенная нами формула (10) позволяет оценить возраст культуры, если известен полупериод, М-концентрация, константа скорости и концентрация культуры на момент измерения:

$$t_x = \frac{\mu_{\max}\theta - \ln\left(\frac{N_{\max} - n_t}{n_t}\right)}{\mu_{\max}} \qquad (10)$$

1.8. Закон отмирания популяции

Обратное развитие популяции, достигшей М-концентрации также протекает закономерно. Уравнение этого процесса (O.Rahn, 1932) имеет вид, аналогичный (4) , но с обратными значениями параметров:

$$n_t = N_{\max} \cdot e^{-kt} \qquad (11)$$

где k – эмпирическая (т.е. определяемая из опыта) константа (скорость).

Уравнение (11) универсально и может применяться для оценки действия любых антимикробных агентов, в том числе антибиотиков и дезинфектантов, если в процессе исследоваия режим не меняется. Вербальная формулирвка: *отмирание популяции под действием постоянного фактора развивается по экспоненте с отрицательным значением скорости процесса согласно уравнению (11).* Соотношения (1-11) показывают, что микробная популяция управляется точными законами.

Резюме

Рост микробной популяции и её отмирание подчиняется математически точным законам, имеющим форму экспоненциальных (степенных) функций. Основными законами являются нелимитированный (безграничный) и лимитированый закон роста, закон субстратной обусловленности, кинетический закон и закон отмирания популяции.

Принципы свои я вывел не из своих предрассудков,
а из самой природы вещей.
Ш. Монтескье

Глава 2

БИОПАТОГЕНОСТЬ И ЕЁ ИЗМЕРЕНИЕ

Эпидинамика микропопуляций, макропопуляций и мегапопуляций должна учитывать неодинаковую патогенетическую роль возбудителей инфекций. А они, как известно, слагаются как минимум из 3-х групп: патогенных, условно–патогенных (оппортунистических) и непатогенных. При отнесении микробного вида к группе патогенных, с давних пор возникали трудности, типа - является ли патогенным возбудитель столбняка, если он безвредный обитатель кишечника и почвы? То, что возбудитель столбняка вызывает тяжелейшую болезнь известно всем. Следовательно, он патогенен. Но с другой стороны болезнь и смерть поражённого им человека, является биологически бесполезной для вида Clostridium tetani, который благополучно растёт и размножается в кишечнике, не вызывая болезни, пока не будет неестественным способом занесен в глубокую рану. Следовательно, он непатогенен, а «условно-патоегнен». А как, в таком случае, быть с его безвредностью при кишечном обитании?

Внесение точности в определение патогенности, как научной категории, имеет важное значение в понимании патогенеза и, особенно, в практике борьбы с инфекциями. Как-никак это связано с объёмом и регламентом противоэпидемических и лечебных мероприятий. Если возбудитель может вызвать эпидемическую вспышку, мероприятия будут направлены на изоляцию больного и борьбу с передачей инфекции. А если возбудитель эпидемическую вспышку не обусловливает, то ещё вопрос – вызывает ли он инфекционное состояние или является наслоением или осложнением другой патологии. И тогда мероприятия будут иметь совсем другой характер. Тогда возникает вопрос, что понимать под патогенностью – видовую биологическую предопределённость или вообще болезнетворность, как у Clostridium tetani?

Один из основателей современной микробиологии Роберт Кох, развивая принципы Генле, в своё время выдвинул триаду критериев патогенности, имеющих явно видоспецифический характер 1).Микроб должен всегда встречаться при определённой болезни и не встречаться у здоровых лиц и при других болезнях. 2) Микроб должен быть выделен в чистой культуре. 3) Чистая культура в эксперименте на животном должна вызывать то же самое заболевание.

Однако позже выяснилось, что почти все истинные патогены могут персистировать (длительно существовать) в организме бессимптомных носителей. А вызывать в эксперименте ту же болезнь не всегда возможно, так как опыт на человеке недопустим, а на животных – зачастую невоспроизводим. К сожалению, находились самоотверженные врачи, прививавшие себе возбудителей, для доказательства их патогенности. Человечество находится в неоплатном долгу перед их светлой памятью. Тем не менее, проблема точного определения патогенности сохраняется и не теряет своего значения. Так, уже давно принято говорить о патогенности условно-патогенных микроорганизмов, что не совсем логично. Условно-патогенные микроорганизмы чаще всего бывают нормальными обитателями кожи и полостей организма человека и животных. Их болезнетворное действие реализуется как осложнение патологии иной этиологии, или в результате заноса в больших дозах (например, с недоброкачественными продуктами), а также при

некоторых медицинских манипуляциях и хирургических вмешательствах. Понятно, что их этиологическая роль совсем не та, что у возбудителей чумы, оспы, брюшного тифа и т. п. Причина этих противоречий кроется в том, что триада Коха – Генле не учитывала патогенности, как особого биологического свойства некоторых микробных видов.

Всплеск внимания к этой проблеме наблюдался ещё в конце прошлого века и был связан с именами А.М. Зарицкого, А.Ф.Фролова, Ю.М.Фельдмана (Украина) и В.Г.Петровской (Москва). Украинские учёные попытались подойти к этому вопросу исходя из эволюционных допущений о последовательности развития, начиная с сапрофитной фазы, через паразитарную, условно-патогенную и, наконец, патогенную стадию. Их определение гласит: «Патогенные…микроорганизмы – это паразиты, для которых болезнь биологического хозяина является необходимым условием существования вида» [12]. Соответственно, «условно-патогенные…микроорганизмы – это паразиты и комменсалы, или свободно живущие микроорганизмы, для которых болезнь… не является необходимым условием существования в природе».

Соглашаясь с приведенными определениями, нельзя, однако, уйти от того, что носительство и персистенция (как и в триаде Коха-Генле) никак не учитывается, а само определение имеет неадекватно альтернативную форму: патогенен – непатогенен. Поэтому мы пошли другим путём, подсказанным нам незабвенным А.С.Коротичем. Подход состоял в том, что «болезнь как необходимое условие существования вида» мы рассмотрели как ресурс воспроизводства популяции возбудителя. Это равносильно общебиологическому принципу – виды отличаются тем, за счёт чего они живут, за счёт какого способа и субстрата питаются.

У микроорганизмов, кроме инфекционного процесса, воспроизводство популяции может осуществляться за счёт комменсализма (как у кишечной палочки) и сапрофитического образа жизни (как у видов, обитающих во внешней среде). Это даёт возможность ввести численный биологический критерий дифференциации патогенных, малопатогенных, условно-патогенных и непатогенных видов. Для этого нужно оценить какая часть видовой популяции микробов репродуцируется за счёт специфического инфекционного процесса, какая часть - за счёт комменсализма, и какая часть - за счёт сапрофитизма. Если окажется, что большая часть, то есть более 50% видовой популяции, воспроизводится за счёт инфекционного процесса, значит, существование вида обеспечивается его патогенностью. Такой вид патогенен по своей биологической природе. Если меньше 50%, то микробный вид является, по крайней мере, условно-патогенным. А если вид воспроизводится только за счёт сапрофитического образа жизни и питания, то он непатогенен.

Этот подход воплотился в предложенном нами «Биологическом индексе патогенности», сокращённо БИП.[13]. Он основывается на постулате, что любая видовая популяция возбудителя инфекции слагается из трёх фракций – воспроизведенных за счёт инфекционного процесса (П), воспроизведенных за счёт комменсализма (К) и воспроизведенных за счёт сапрофитизма (С). Например, сальмонеллы репродуцируются во внутренней среде организма при острой токсикоинфекции (П), а также за счёт комменсализма в кишечном химусе при носительстве (К), и ещё могут размножаться в водоёмах (С). Напротив, шигеллы Флекснера репродуцируются за счёт внутриклеточной инвазии (П) и за счёт размножения в химусе (К). Репродукция за счёт сапрофитизма у них нулевая, то есть, С = 0. Таким образом, в общем виде популяция микробного вида В, характеризуется суммой:

$$n = П + К + С$$

Откуда биологический индекс патогенности запишется как:

$$БИП = \frac{П}{П + К + С} \qquad 12$$

Диапазон значений для патогенных видов составит: 1 – 0,5; для условно патогенных (оппортунистических) 0,5 - 0; для непатогенных - 0 (потому что *П=0)*.

Биологический индекс патогенности позволяет обосновано различать патогенные и непатогенные виды друг от друга, не прибегая к критериям Коха-Генле. К сожалению, микробиологическая и клиническая практика нашего времени не стремится к чёткому разграничению этих категорий. Как правило, болезнетворный потенциал условно-патогенных (т. наз. оппортунистических) и сапрофитических видов совмещается с потенциалом биологически предопределённых патогенных видов. Это заставляет нас предложить для них специальное наименование ***биопатогенных*** (БИП:1 – 0,5). Теперь, не впадая в противоречия, следует считать Clostridium tetani ***небиопатогенным***, потому что его обширное распространение в почвах, даже без исчислений БИП, явно не обусловлено случаями столбняка человека и животных. Но эти случаи обусловлены другим, присущим ему биологическим свойством – вирулентностью.

Этимологический смысл вирулентности достаточно полно отражает патогенетическую сущность этого свойства. Термин происходит от латинского virus – яд. А токсины - яды микроорганизмов. Следовательно, убивающий своим токсином, возбудитель столбняка, хотя и небиопатогенен, но вирулентен, причём высоковирулентен. И здесь снова возникает противоречивая коллизия, - ведь вирулентность давно признаётся мерой патогенности [11]. Чтобы её разрешить, и сохранить за вирулентностью общепринятые способы лабораторных определений, приходится задуматься над тем, чем по своей природе является мера патогенности?

Смысл и содержание БИП заставляет усматривать меру патогенности в учёте воспроизводства биомассы возбудителя в инфекционном процессе, то есть в динамике развития популяции возбудителя. Впервые на это указал Рене Дюбо (в русском переводе – 1957 г.). Позже этот принцип был подтвержден и развит в наших совместных исследованиях с В.М. Бондаренко и акад. АМН В.Н. Покровским при негласном участии светлой памяти В.Г.Петровской[7,8,9]. Но нельзя пройти мимо того факта, что подход Р.Дюбо [10], также как и наш, не согласуется с традиционным пониманием вирулентности как меры патогенности. То есть мы возвращаемся к всё тому же конфликту представлений о вирулентности и патогенности.

Обратимся к практике экспериментальных оценок. Как известно, вирулентность определяют по смертности экспериментальных животных (например, мышей или других объектов – клеточных культур, эмбрионов), при искусственном инфицировании (например – при внутрибрюшинном введении). То есть в полном отрыве от реального патогенеза инфекции.

Но это нелогично. Вирулентность в такой постановке опыта может рассматриваться как мера патогенности лишь в тех немногих случаях, когда смертность экспериментальных животных обусловлена таким же патогенезом инфекции как у человека, например, как при чуме, сибиркой язве или так, как при титрации вирусов на куриных эмбрионах или клеточных культурах. Поэтому мы осмеливаемся считать, что традиционное представление о вирулентности, как универсальной мере патогенности, некорректно, что оно противоречит биологической сущности инфекционного процесса и является вынужденной ошибкой микробиологов минувшего столетия. Изучая инфекционный процесс, они понимали, что он обусловлен токсинами вохбудителей. Это заставляло их предполагать, будто токсическое действие можно оценить отдельно от естественного развития инфекционного процесса, поставив пробу на вирулентность, то есть пробу на

отравление. Но они не учитывали того, что интоксикация организма любым возбудителем не может существовать отдельно от инфекционного процесса и его патогенеза. Интоксикация по необходиости зависит от динамики развития возбудителя в инфекционном процессе и реакции макроорганизма. Интосикация по необходимости видоспецифична для микро- и макроорганизма. Поэтому *биологической мерой патогенности необходимо считать динамику и уровень численного развития популяции возбудителя в больном организме* Вопрос в том – как это измерить? Это не просто, но как мы покажем дальше, пути решения проблемы существуют.

Что касается вирулентности, то считать её мерой патогенности можно лишь с очень существенными ограничениями. В заключение введём ряд определений, на которых основывается Эпидинамика:

Патогенность (биопатогенность) – биологическое свойство вида жить за счёт возбуждаемого им инфекционного процесса.

Вирулентность – мера токсигенности и летального действия микроорганизмов на лабораторных моделях.

Условная патогенность – способность развиваться и вызывать в организме инфекционный процесс при искусственном введении, и введении больших доз.

Последнее определение указывает на то, что заражение, при заболеваниях обусловленных условно-патогенными микроорганизмами, не является для них биологической необходимостью, что оно для них экстраординарно. Оно указывает на слишком большое участие случая при их возникновении. Это не позволяет основывать Эпидинамику на модели условно-патогенных микроорганизмов. Поэтому Эпидинамика строится и относится к биопатогенным микроорганизмам.

Вирусы конечно должны быть отнесены к категории биопатогенных, так как все 3 типа их взаимодействия с катками макроорганизма – продуктивный, абортивный и интегративный – используют хозяина для собственной репродукции. При этом тяжесть вызываемой ими патологии либо итерации, характеризует их вирулентность.

Резюме

Патогенность и вирулентность не всегда взаимосвязаны как с точки зрения логики, так и с точки зрения экспериментальной оценки. Противоречивая и не всегда выполнимая оценка патогенности по триаде Коха-Генле может быть заменена. Предлагается считать вид патогенным, если он живёт за счёт возбуждаемого им инфекционного процесса. Вводится биологический индекс патогенности и предлагается облигатно патогенные виды именовать « биопатогенными».

Метод важнее открытия, ибо правильный
метод исследования приведёт к новым
ещё большим открытиям
Л.Д.Ландау

Глава 3

МОДЕЛИРОВАНИЕ ИНФЕКЦИИ

3.1 Предварительные замечания.

Возбудители (микробы и вирусы) могут проникать в организм:
1) через желудочно-кишечный тракт с продуктами питания и водой,
2)через верхние дыхательные пути с частицами инфицированных аэрозолей.
3)через кожу при прямом контакте с другим инфицированным организмом.
4)парентерально за счёт укусов инфицированных животных, насекомых либо искусственно с за счёт травм, негигиеничных манипуляций, инъекций, переливаний крови, то есть ятрогенно.

Последние 2, из перечисленных 4-х вариантов проникновения, мы рассматривать не будем. Причина в том, что они связаны с активностью внешних факторов – людей, животных, насекомых и пр. Напротив, заражение через желудочно-кишечный тракт и через верхние дыхательные пути связано с жизненным укладом человеческого общества, имеет наибольшее эпидемическое и познавательное значение, обусловливает подавляющее число инфекционных заболеваний и колоссальный шлейф переходов в соматическую патологию. Заражение через желудочно-кишечный тракт и через дыхательные пути эксплуатируется биопатогенными микроорганизмами. Поэтому изучение этих путей заражения представляет одну из основных задач Эпидинамики.

Заражение - очень не простой процесс. Он не подобен заполнению некоторой пустоты, и не равнозначен случайному попаданию возбудителей в любое место организма. Даже самые опасные возбудители, попадая не в биологически предопределённое им место организма и не в нужном количестве, инфекционную болезнь не вызывают. Возбудителям газовой гангрены, чтобы вызвать тяжелейшее заболевание, нужно попасть в рану. Те же микробы в кишечнике того же человека – совершенно безвредны. Возбудители бактериальных эпидемических кишечных инфекций не вызывают болезней кожи, насморка или катаров верхних дыхательных путей, а возбудители инфекций, передающиеся через укусы кровососущих насекомых, не могут обусловить раневую инфекцию или вызвать энтероколит. Медикам это давно и хорошо известно.

На всём протяжении процесса заражения, даже биопатогенным возбудителям, в биологически предопределённом месте («входных воротах инфекции») приходится преодолевать мощные и совершенные физиологические и анатомические барьеры организма. Если они к этому не приспособлены, вся их токсичность и вирулентность не даст им возможности заразить организм. И первым из таких барьеров является слизистая оболочка кишечной и дыхательной трубки. Для преодоления этого барьера возбудитель, прежде всего, должен обладать способностью прикрепления. Физический механизм прикрепления именуется – адгезией. Процесс адгезии является парным взаимодействием, то есть таким, который зависит от природы обоих слипающихся поверхностей – слизистой и микроба. При моделировании инфекции это нужно учитывать, так как не может существовать адгезивность микробных клеток вне восприимчивости, то есть адгезивности слизистой оболочки. Патогенность возбудителя

автоматически означает, что данный возбудитель способен к адгезии на слизистой организма хозяина конкретной видовой принадлежности. То есть адгезия всегда видо- и органо-специфична.

Видоспецифичность адгезии возбудителей к слизистой оболочке человека представляет собой одно из ключевых условий процесса заражения. Она необходима возбудителю для преодоления слизистого барьера. Как правило, преодоление барьера – удел не одиночек, а небольших популяций. Поэтому эффективность заражения зависит от «дозы». Её измерение составляет вторую ключевую проблему Эпидинамики. Поскольку невозможно изучить развитие популяции возбудителя в организме человека или животного, не нарушая при этом его целостности, возникает проблема выбора адекватных моделей.

3.2. Моделирование инфекции. Принципы и подходы.

В широком смысле к моделям может относиться любой образ, мысленный или материальный аналог, описание (в том числе математическое), схема, график, чертёж, компьютерная программа, теория, живая система и т.п., при условии, что они воспроизводят *существенные стороны* объекта, процесса или явления. «Существенность» во многом зависит от постановки вопроса, от взглядов, подходов и даже мировоззрения исследователя. Важно всегда учитывать - модель потому и модель, что отражает лишь *часть*, а не весь объект. Но какая это часть – конечно, должно быть строго оговорено. Поэтому изучение сложных процессов a priori нуждается в разных моделях, воспроизводящих разные стороны целостного объекта, то есть *сложное необходимо изучать по частям*. Но части должны быть стыкуемы.

С учётом сказанного, модель инфекции не может быть всеобъемлющей. Но она должна адекватно воспроизводить части целостного процесса. К сожалению, это наталкивается ещё на одно существенное затруднение. Возбудители инфекций обычно видоспецифичны и не вызывают тождественных заболеваний у других биологических видов, в том числе лабораторных животных. Наиболее сложную проблему представляют возбудители человеческих «антропонозных» инфекций. Чтобы воспроизвести антропонозную инфекцию на лабораторных животных, (этими инфекциями не болеющих), экспериментаторы вынуждены прибегать к разным, далеко не адекватным, ухищрениям – отравлению животных ядами, голоданию или оперативным вмешательствам.

В одном из подобных изощрённых вариантов, несчастное животное лапаротомируют, накладывают на расстоянии нескольких см 2 лигатуры на кишку и, проколов между ними кишечную стенку, вводят шприцом заразный материал. Вся та жуткая патология, которая развивается у замученного зверька, почему-то называется моделью «лигированой петли кишечника». В таком названии избыток авторских амбиций и недостаток медицинской грамотности. Ведь совершенно очевидно, что моделируется *кишечная непроходимость*, осложнённая оппортунистической (для животного) микрофлорой, а не инфекция, возбуждённая видоспецифичным возбудителем. Об адекватном воспроизведении механизма заражения и всего инфекционного процесса здесь вообще речи быть не может.

Вообще моделирование антропонозной инфекции на животных - гордиев узел экспериментальной инфектологии и критическая проблема Эпидинамики. Использовать для этого организм человека совершенно недопустимо. Даже если не посчитаться с этическим аспектом, практически невозможно с экспериментальной целью заглянуть во внутреннюю среду и органы человека, ввести туда аликвот заразного материала и проследить его диссеминацию и развитие в органах, тканях и клетках. Поэтому так неинформативны были бессмысленные и жестокие эксперименты на людях, практиковавшиеся во время 2-й мировой войны так называемыми «странами оси».

Мы не можем обойти забвением благородные примеры, когда врачи прибегали к опыту на себе. Воздавая им высшую меру признательности за самоотверженность, нельзя не высказать сожаления в связи с их безвременным уходом из жизни. Объём информации (зачастую всего 1 - 2 бита), полученный в результате жертвенных экспериментов едва ли стоил их жизней.

3.3. Гордиев узел видоспецифичности.

Может показаться, что трудности экспериментального моделирования антропонозных инфекций могут быть преодолены за счёт использования клеток или тканей человека. Впервые культивирование фрагментов органов млекопитающих in vitro было осуществлено Лёбом (1897), а культивирование тканей Гаррисоном в 1907 г. Лёб и Флейшер (1919) показали, что успешное культивирование требует присутствия кислорода, позже выяснилось, что необходимо ещё добавление 5% углекислого газа. С тех пор культивирование клеток и тканей превратилось в самостоятельное научное направление, методы которого широко используются в вирусологии, вакцинном производстве и экспериментальной онкологии. Однако для задач, которые стоят перед Эпидинамикой, ни одна разновидность использования клеток не пригодна, потому что все они в большей или меньшей степени сопровождаются нарушением естественной структуры слизистых оболочек и органа, из которого были взяты. Даже т. наз. органокультуры – культивирование целых фрагментов органов, - сопровождаются некрозами и нарушениями тонких структур поверхности тканей (особенно слизистой оболочки), которые не могут не изменять условий взаимодействия с бактериальными клетками при естественном заражении. Этого достаточно, чтобы отказаться даже от органокультур.

Поэтому мы разработали принципиально иной модельный подход, основанный на использовании фрагментов экстирпированных органов человека (далее - ФЭО). Такая модель полностью снимала проблему видоспецифичности, исключала необходимость применения экспериментальных животных, тем самым, снимая почти все, в том числе биоэтические ограничения, и обеспечивала адекватность и видоспецифичность.

3.4. Моделирование инфекции на фрагментах органов человека

Для моделирования отдельных этапов кишечной инфекции (в нашем случае - шигеллезе Флекснера) материалом служили, удалённые при хирургических операциях участки кишечника человека или постабортальных человеческих плодов в возрасте 11 - 14 недель. В этом возрасте слизистая кишечника плодов имела хорошо развитую гистологическую структуру слизистой оболочки и клеточных элементов. Забор материала производился с разрешения администрации государственного абортария, действовавшего по лицензии Министерства здравоохранения УССР.

Моделирование оказалось достаточно сложной задачей, так как тканевой материал, без применения соответствующих подходов, сохранял жизнеспособность всего около 240 минут (4 часа). Много души и находчивости внесли в разработку методики взыскательность, талант и умелые руки Т.Ф.Коноваленко и безвременно ушедшие мои ученики, и соратники А.В.Григорьев и Л.Г.Купчинский. Благодаря ценным советам известного украинского реаниматолога тех лет, кандидата медицинских наук, ныне покойного, В.Ф.Жалко-Титаренко, нам удалось избежать многих трудностей на этом пути. Вечная ему память и благодарность.

При транспортировке и хранении материала до использования в эксперименте, применялся метод консервации холодом. Материал охлаждался до температуры близкой, но выше 0^0С, для чего помещался в сосуд с теплоизоляцией и охлаждённой средой Хенкса. В этом виде материал доставлялся в лабораторию и сохранялся в холодильнике при t^0= +(6-8)^{0}С до использования в тот же день. Далее оценивалась жизнеспособность экстирпатов и производилась подготовка к заражению. Все манипуляции производились

в охлаждённой среде. С этой целью использовался специальный препаровальный столик, представляющий собой пластмассовый циллиндрический сосуд, заполненный водой с кусочками льда, на котором устанавливалась чашка Петри с материалом (см. рис.3.1.). В чашку помещался лист пищевой резины, толщиной 3 мм, и наливался охлаждённый раствор Хенкса, чуть покрывая её. На резину укладывались экстирпированные фрагменты тонкой кишки и с помощью, специально заточенных отшлифованных, микрохирургических инструментов под бинокулярным микроскопом производилось их препарирование.

Рис.3.1. Препаровальный столик с установленной на нём чашкой Петри, подкладной резинкой и фрагментом кишки

Материал из постоперационных фрагментов тонкой кишки взрослого человека препарировался с целью асептического выделения собственно слизистой оболочки. Особых устройств это не требовало, но было достаточно сложной процедурой. Облегчить её может аспирационное отделение слизистой оболочки от субмукозных тканей.

При использовании кишечника человеческого плода препарирование предусматривало удаление брыжейки, с таким расчётом, чтобы её остаток у внутреннего края кишки не превышал 2 мм. Остаток брыжейки даёт кишке возможность осуществлять медленные червеобразные движения. Чтобы устранить эту помеху, остаток брыжейки через каждые 3 – 4 мм надсекался. Фрагмент кишки должен иметь длину не меньше 30 мм. Размеры - длина и ширина (диаметр)- измерялась штангель-циркулем.

Приготовленные таким способом *кишечные препараты* должны были сохранять жизнеспособность на протяжении всего эксперимента. Но для этого, потребовалось установить критерии их жизнеспособности. С этой целью были предприняты исследования ультраструктуры клеток эпителия слизистой, оценены известные тесты на жизнеспособность с помощью красителей (например, трипанового синего) и отысканы другие, более оперативные признаки. Найдено 2 очень чётких критерия:

1) сохранение сократительной активности у кишечников плода.

2) состояние сосудистого пучка ворсинок эпителия, свойственное обоим видам кишечных препаратов.

Жизнеспособный препарат кишечника плода при механическом раздражении должен реагировать чёткообразными перетяжками, что свидетельствует о сохранности особочувствительной к отмиранию структуры - интрамуральной нервной системы. Второй тест – состояние сосудистых пучков ворсинок. Если слизистая жизнеспособна, то сосудистые пучки ворсинок заполнены алой кровью, что без труда можно установить с помощью бинокулярной лупы. Когда реакции на механическое раздражение нет или сосудистые пучки опустели и потеряли, присущий им алый цвет, значит, ткань начинает омертвевать и для опыта не годится.

Совокупность этих данных позволила определить интервал времени, в течение которого тканевой фрагмент сохранял необходимый уровень жизнеспособности. Как было отмечено, интервал составляет 240 минут (4 часа) нормотермической экспозиции (+37^{0}С), хотя по другим тестам - окрашивание трипановым синим и способности к репродукции вируса гриппа, - жизнеспособность эпителия была существенно дольше 4-х часов. Но мы отказались от соблазна основываться на этих оценках, так как они свидетельствовали лишь о наличии жизнеспособных клеток, а не всей ткани в целом.

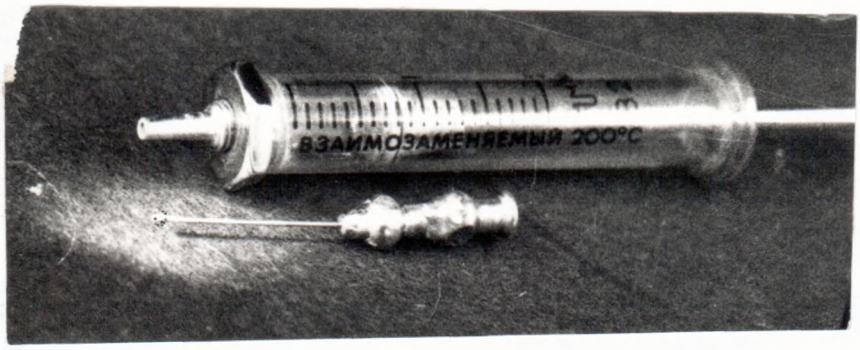

Рис. 3.2 Микроканюля с оливой на конце

Рис.3.3 Канюля на пластине с кишкой человеческого плода. Увеличено в 5 раз

Адекватное взаимодействие кишечного препарата с возбудителем потребовало разработки ряда технических устройств и приспособлений. Кишечный препарат на

основе кишки человеческого плода монтировался на одной из специально разработанных каноль. Простейшие из них представляли собой инъекционные иглы с отрезанными и заглаженными кромками среза. Более совершенные имели напаянную на конце оливу, позволявшую удерживать насаженную кишку лигатурой (рис.3.2). Применялись также каноли из сверхтонких стеклянных трубок с выдутой оливой. Ещё были разработаны каноли, вмонтированные в специальные пластины из дюралюминия или плексигласа, со скобочными зажимами для фиксации кишки (рис.3.3).

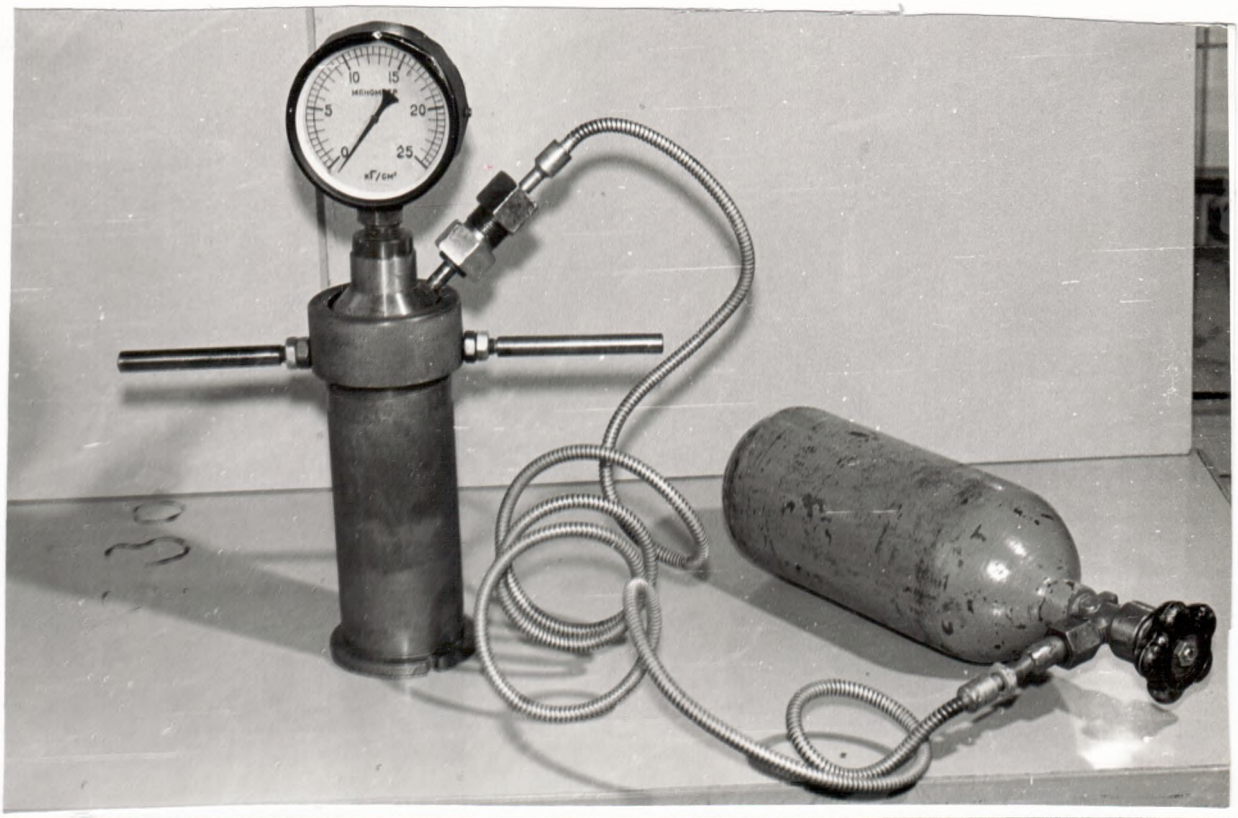

Рис. 3.4 Гипербарный культиватор в сборе. Справа баллон с кислородом

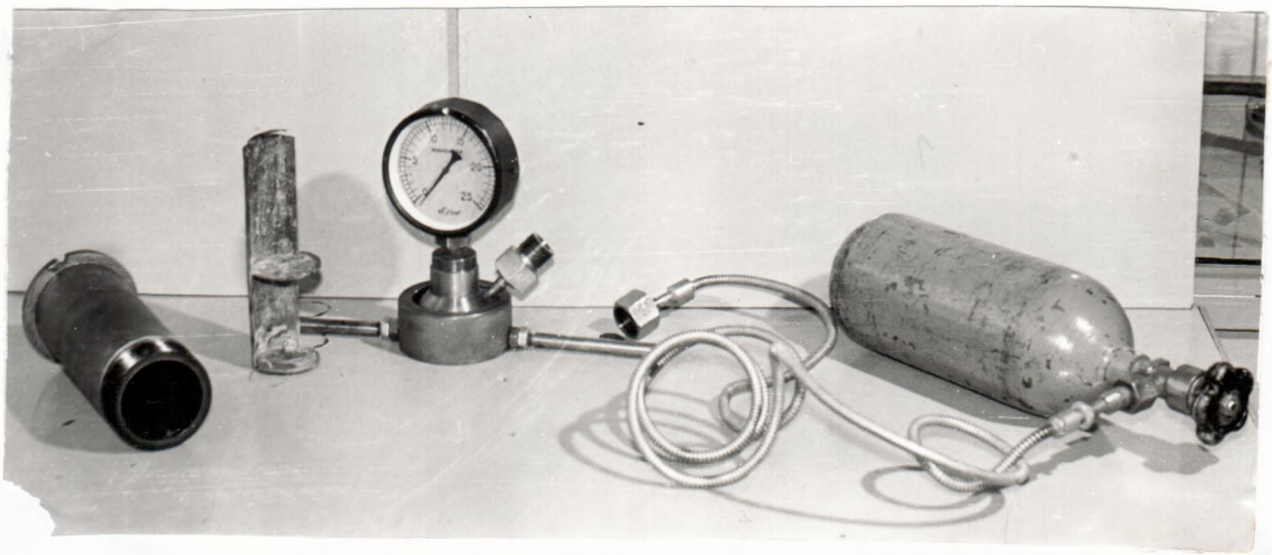

Рис. 3.5.. Гипербарный культиватор в разобраном состоянии перед закладкой флакончиков с ФЭО

Когда тканевой материал использовался для изучения роста популяции возбудителя, его жизнеспособность поддерживалась погружением в среду 199 и экспозицией в атмосфере повышенного давления (гипербарии) кислорода (до 2 атм.) с добавлением 5% углекислого газа («карбоген»), при постоянном шутелировании. Для этого использовался специально разработанный металлический герметичный контейнер «гипербарный культиватор» (рис.3.4 и 3.5)

Температурный режим и шутелирование достигалось погружением в термостатированную водяную баню с шутелирующим устройством. Поскольку мы приняли, что длительность эксперимента не должна была превышать 240 минут, все микробиологические исследования проводились в пределах этого интервала времени. Учитывая краткосрочность эксперимента, их невозможно было бы численно оценить, если бы нами не были разработаны параметры процесса (разд.1.7).

Не следует думать, что 4-х часовый интервал времени слишком мал. Если бы оценивалось размножение микробов в пробирке с бульоном, тогда этого времени действительно не хватало и исследование требовало бы около суток. Но нужно учитывать, что 4-5 мл бульона в пробирке превосходят объём локального микроскопического очага в эпителии во много миллионов раз. Поэтому нескольких часов вполне хватает для достижения той максимальной концентрации, которая в пробирке с бульоном нуждается в 18 – 24 часах роста.

С помощью ФЭО в принципе можно изучать развитие инфекции на любой стадии при любой, в том числе респираторной, инфекции. Но, как мы отмечали выше, неопределённости при дозировании аэрозольного заражения, заставили нас отдать предпочтение кишечной инфекции. В качестве инфекционного агента был избран высокопатогенный штамм шигеллы Флекснера 2а № 516 из коллекции Ю.А.Белой.

Преимущество такого выбора состояло в том, что цикл развития этого возбудителя протекает в доступном для наблюдения эпителиальном слое слизистой оболочки и прилежащего химуса. Такие особенности этого цикла, как диссеминация вдоль поверхности слизистой, сближает их с репродукцией вирусов гриппа и других назофарингеальных возбудителей. На предложенной модели феномены иммунного ответа, без использования дополнительных приёмов, наблюдаться не могут, хотя в ультратонких срезах иногда наблюдались макрофаги с поглощёнными шигеллами, а также эпизоды гибели отдельных бактерий при контакте с микроворсинками. Следует принимать во внимание, что в организме реакции иммунного ответа возникают не в момент заражения, для которого разрабатывалась модель, а намного позже. И при тщании, смоделировать их, имея в руках живую ткань человека, нам представляется не таким уж бесперспективным делом. Но эта возможность выходит за рамки предназначения данной модели.

Разработанная модель открывает совершенно иной, новый путь исследования человеческой патологии не в целом (когда трудно разобраться в деталях), а по частям, из которых она слагается. Кроме того, использование ФЭО является прологом к моделированию на целых органах, подсоединённых к аппаратам искусственного кровообращения. Такие модели давно существуют в экспериментальной трансплантологии и хирургии. Наш собственный опыт их разработки поддерживает уверенность в перспективности изучения на них инфекционного процесса.

Резюме.

Исторически сложившиеся представления о моделировании инфекций на животных не учитывают того, что модель совсем не обязательно должна воспроизводить весь инфекционный процесс в целом. Поэтому моделирование на

экспериментальных животных может оказаться более удалённым по отношению к естественному процессу, чем воспроизведение инфекции по частям, но на видоспецифичных тканях организма хозяина, в особенности человека. Использование человеческих тканей усложняет процесс исследования, но делает результаты более адекватными и репрезентативными. Приходится применять методы консервации тканей, оценивать их жизнеспособность, создавать и применять приспособления для заражения.

Часть 2 МИКРОПОПУЛЯЦИЯ

Corpora non agunt nisi fixata

Paul Ehrlich

Глава 4

INOCULUM

4.1. Адгезия и адгезивность

Общая картина взаимодействия возбудителя с организмом, в соответствии с общепринятыми представлениями, показывает, что заражение начинается с прилипания, то есть адгезии, к слизистой оболочке. Хотя адгезируется каждая клетка возбудителя в отдельности, заражение обычно осуществляется заразным материалом, содержащим их совокупность, то есть некоторой микропопуляцией. Поэтому всегда следует различать адгезию клетки и адгезию популяции.

Адгезия является парным физико-химическим взаимодействием поверхностей двух объектов: «адгезива», т.е. микробов, и «субстрата» - эпителия слизистой оболочки (лат. substratum – подстилка). Это взаимодействие всегда зависит от особенностей поверхностей каждого из них. Адгезия с одним субстратом никогда не гарантирует такого же взаимодействия с другим.

Адгезия имеет численную характеристику - «уровнень адгезии». Соответствующий показатель (12) определяет количество прикрепившихся микробов, вирионов (и любых иных микроскопических объектов) на единицу площади субстрата (в нашем случае - слизистой оболочки):

$$C = \frac{n}{S} \qquad (12)$$

где: C – уровень адгезии, n – число адгезированных микробов, S – площадь поверхности

Адгезия клеток возбудителя антропонозной инфекции на слизистой оболочке человека, оставаясь физико-химическим взаимодействием, не может не иметь специфических механизмов. Для этого у возбудителя имеются специализированные надмембранные структуры – фимбриальные адгезины. Они обладают комплементарностью к рецепторным структурам, расположенным на поверхности клеток организма Одним из способов выявления активности таких структур, является тест на «адгезивность» - прилипание микробов к формалинизированным эритроцитам человека или изолированным клеткам эпителия [33]. Адгезивность измеряется «индексом адгезивности микроорганизмов» (ИАМ), который представляет собой среднее число прилипших микробов на один восприимчивый к ним эритроцит или изолированную клетку. Однако величина индекса никак не связана с популяцмонным критерием - уровнем адгезии к слизистой оболочке. Поэтому ИАМ не даёт возможности оценить главный параметр патогенности - заражающую дозу.

Причина в том, что поверхность формалинизированного эритроцита, а также любой другой изолированной клетки организма, совсем не такая, как у целой ткани. Поэтому проба на адгезивность к эритроцитам указывает лишь, на степень насыщенности поверхности микроба фимбриальными образованиями, адгезинами другой природы, но не более. К тому же, тест на адгезивность игнорирует тот факт, что адгезия – обоюдосторонний процесс и можно в равной степени считать, что возбудитель прикрепляется к субстрату (клеткам организма) или, что субстрат прикрепляется к возбудителю. Ведь физически адгезия всегда является парным, обоюдосторонним

взаимодействием. Поэтому уверенность в том, что тест на адгезивность определяется только особенностями микроба, и даже отражает его патогенность и вирулентность, недостаточно корректна. Ведь ИАМ не даёт возможности рассчитать и оценить естественное взаимодействие - уровень адгезии к слизистой оболочке (12), а также, связанную с ним величину инфекционной дозы. Поэтому ИАМ в Эпидинамике не использовался.

4.2. Адгезионный процесс. Пристеночный слой и биоплёнки.

Адгезия шигелл к слизистой оболочке кишечника человека («гистадгезия») показана на ультратонком срезе рис. 4.1.

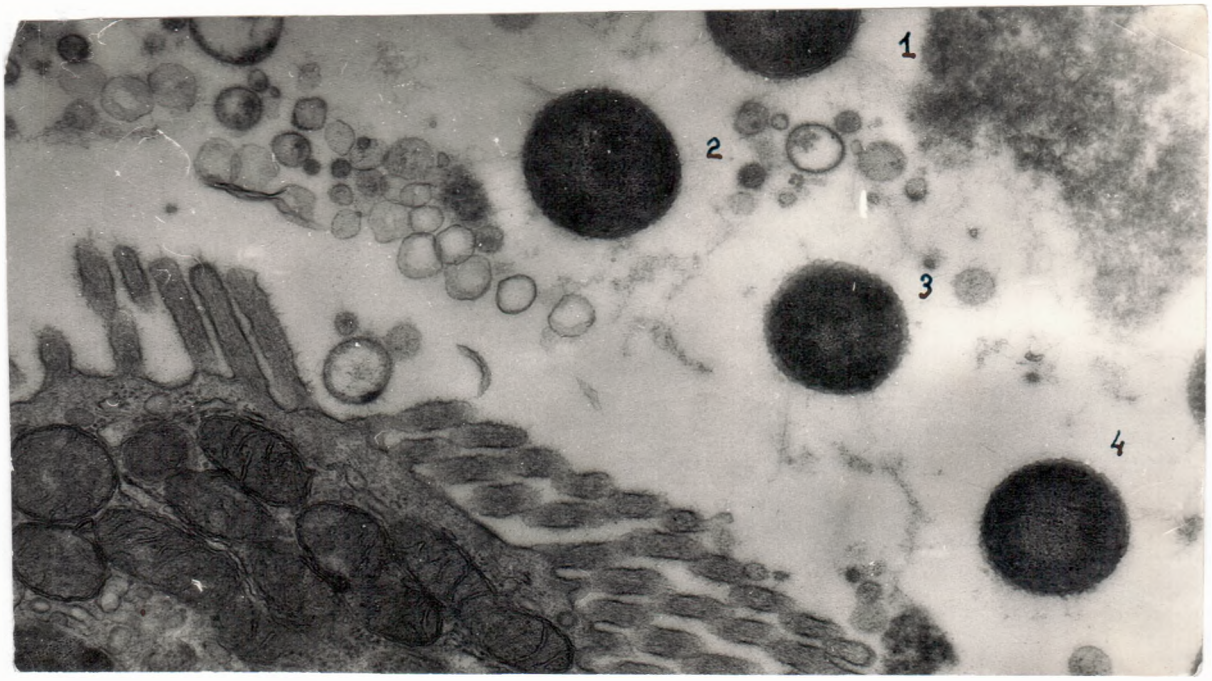

Рис. 4.1. Ультратонкий поперечный срез через 4 адгезирующихся к эпителиоциту шигеллы: Описание в тексте.

На микрофото слева направо и сверху вниз показаны разные стадии приближения и слияния бактерий с гликокаликсом слизистой оболочки*(см. примеч стр.29). Шигеллы срезаны поперёк, имеют форму дисков тёмного цвета, окруженных электроннопрозрачными зонами, - микрокапсулами. Их иногда называют бактериальным гликокаликсом. В микрокапсуле можно заметить многочисленные радиальные тяжи фимбриальных адгезинов. Клетка, помеченная №1, справа, окружена бесструктурным кишечным содержимым, так наз. «химусом». Клетка №2 отделена от микроворсинок энтероцита прослойкой более структурированного материала - полиморфного детрита, содержащего остатки мамбранных клеточных формирований. Клетка №3 своим гликокаликсом коснулась мукозного слоя эпителия, который слился с гликокаликсом энтероцита и щёточной каёмки. Их разделяет только тончайшая бесструктурная полоска, которая посредине уже исчезла. Клетка №4 обнаруживает заключительную стадию адгезионного процесса -- слияние гликокаликсов и погружение в мукозный слой.

При рассмотрении поэтапно приближающихся и сливающихся с мукозным слоем эпителия шигелл, становится понятным, что адгезия осуществляется только теми микроорганизмами, которые непосредственно к нему прилегают. Более удалённые

клетки №1 и №2 явно в адгезионное взаимодействие ещё не вступили. Значит, сколько бы их не было выше (дистальнее) эпителия, они в адгезии прямого участия пока не принимают. В процесс вовлекается только пласт бактерий, прилегающий к мукозному слою. Используя физико-химическую терминологию, можно сказать, что адгезируют только те микроорганизмы, которые находятся на поверхности раздела фаз: химус – мукозный слой. Они составляют т. наз. «пристеночный» слой. Процесс, запечатлённый на электронно-микроскопическом снимке, показывает, что адгезия микроорганизмов осуществляется из пристеночного их расположения.

Следует учитывать, что содержимое кишечника, т. наз. «химус» представляет собой дисперсную систему, состоящую из пищевых остатков, желчи, ферментов, слизи и бактерий. Химус тонкой кишки всё время перемешивается сократительными движениями кишечника и смещается в сторону толстой кишки. Там движение замедляется, достигая минимума в сигмовидном отделе, где начинается формирование каловой массы. Множество бокаловидных клеток в эпителии слизистой оболочки защищаются от неё выбросами слизи, формирующей эластичный вязкий покров, блокирующий микробы и механические вредности, отбрасывая их в просвет. Непрерывные сократительные движения кишки способствуют перемешиванию химуса. Поэтому можно считать, что бактерии более или менее равномерно распределены в химусе. А «пристеночный слой» - это непрерывно обновляемая пристеночная среда и все её характеристики имеют усреднённый характер.

Описанная нами динамичная картина состояния химуса исключает всякую возможность возникновения т. наз. «биоплёнок», как стабильных форм микробного роста на слизистых оболочках. При всём том, капсула (гликокаликс) микробов и гликокаликс слизистой оболочки имеют полисахаридную природу близкую к биоплёночному матриксу [34]. Биоплёнки в здоровом организме могут возникать на поверхностях стационарных структур - на зубах, конкрементах, ногтях и т.п. Исключение составляют патологические состояния, когда очистительная функция слизеотделения нарушается. К ним относятся парез кишечника, трофические язвы, инородные тела (например, залежалые тампоны), травмы, и т.п.

Поэтому биоплёнки не имеют ничего общего с категорией пристеночного слоя, среда которого подвижна, а понятие «толщины биоплёнки» никак не совпадает с понятием высоты (толщины) пристеночного слоя. Прямая оценка толщины пристеночного слоя не может основываться на измерении активной поверхности всех ворсинок и крипт, потому что они составляют особый слой, заполненный гликокаликсом, граничащий с химусом. Границей раздела является наружная поверхность слизистой выстилки. Она же является внутренней поверхностью пристеночного слоя химуса. Поэтому толщину (высоту) пристеночного слоя химуса нужно отсчитывать от этой границы к центру кишечной полости

---

*) *Примечание. Мукозный слой* – слой слизи, покрывающий однослойный эпителий слизистых оболочек, продукт бокаловидных клеток. *Гликокаликс* – непосредственно прилегающий к микроворсинкам насыщенный ферментами электронно-прозрачный слой с переплетением филаментозных структур, в котором проходит заключительное ферментирование пищи. *Химус* - содержимое тонкого и начального отдела толстого кишечника. Содержит продукты переваривания из верхних отделов желудочно-кишечного тракта, желчь, незначительное количество микроорганизмов, преодолевших желудочный барьер. *Детрит* – продукт деструкции органического и тканевого материала

.

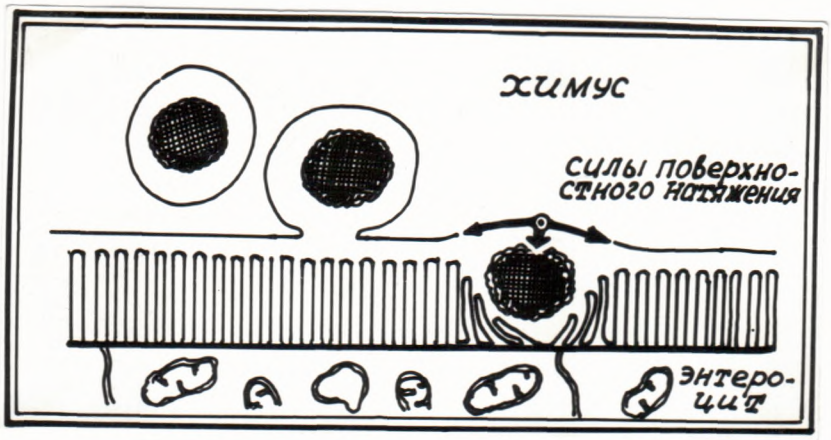

Рис. 4.2. Схема, иллюстрирующая возможный механизм адгезии и «прижимного действия» на микроворсинки, за счёт слияния микрокапсул микроба и гликокаликса эпителия, благодаря чему формируется система, стремящаяся к минимуму поверхности..

Мы приняли, что пристеночный слой - это пристеночное пространство кишечного просвета, в котором бактериальные клетки по высоте занимают 1 ряд. Тогда, чем выше концентрация микробов, тем «расчётная» высота слоя будет меньше, а чем концентрация меньше, тем «расчётная» высота слоя будет выше. Если принять, что суспензия равномерно покрывает слизистую оболочку, и что концентрация микробов в суспензии – К, то толщина пристеночного слоя – h определит соотношение, выраженное формулой:

$$h = \sqrt[3]{K^{-1}} \qquad (13)$$

Следующий вопрос – как измерить концентрацию микробов в пристеночном слое т.н. «поверхностную концентрацию» - *P?* Её задаёт предлагаемая ниже формула:

$$P = \sqrt[3]{K^{2}} \qquad (14)$$

Определение. *Поверхностная концентрация это число микроорганизмов, которое приходится на единицу площади пристеночного слоя (размерность мко/см^2, мко/мм^2).*

Поверхностная и объёмная концентрации взаимозависимы. Основные соотношения между ними:

$$K = \frac{n}{V} = n \cdot V^{-1}; \quad P = \sqrt[3]{K^{2}} \; : \quad K^{\frac{2}{3}} = P; \quad K = \sqrt{P^{3}} \qquad (15)$$

Ниже, для иллюстрации, приводим таблицу соотношения между объёмной концентрацией K, высотой (толщиной) пристеночного слоя - h и поверхностной концентрацией – P (см. табл. 4.1), на которые мы будем далее ссылаться.

Феноменология адгезии

Как показало электронномикроскопическое исследование адгезионного взаимодействия, процесс начинается с контакта микрокапсулы (гликокаликса) микроба и слизистой выстилки эпителия. При их контакте, образуется система, стремящаяся к минимуму поверхности. Благодаря этому разделяющая их граница, как показывает рис. 4.1 и схема на рис. 4.2. исчезает, бактериальная клетка погружается в слизь и приходит в соприкосновение с подлежащим гликокаликсом.

Таблица 4.1.

Соотношения между параметрами микробной суспензии перед заражением тканевой поверхности (слизистой оболочки)

Объёмная концентрация К (мко/см^3)	Высота пристеночного слоя h (мкм)	Поверхностная концентрация Р (мко/мм^2)	Поверхностная Концентрация Р В системе СИ (мко/см^2)
10^2	2154	0,2	20
10^3	1000	1	100
10^4	464	4,6	460
10^5	215	21,5	2150
10^6	100	100	10000
10^7	46,4	464,1	46410
10^8	21,5	2154	215400
10^9	10,0	10000	1000000
10^{10}	4,6	46424	4642400
10^{11}	2,1	215443	21544300

Примечание: мко- здесь и далее означает-«микроорганизмы»

Процесс адгезии шигелл сопровождался двумя ультраструктурными феноменами. Первый состоял в том, что при приближении шигелл к цитомембране энтероцита, ещё на расстоянии, можно наблюдать встречную миграцию митохондрий. Второй феномен - микрокапсула микроба, после слияния с гликокаликсом, прижимает и раздвигает микроворсинки щёточной каёмки, что свидетельствует о возникновении некоей «прижимной» силы.

Источником «прижимного» действия могут быть силы поверхностного натяжения, которые организуются, как только вещество микрокапсулы сольётся с мукозным слоем по схеме на рис. 4.2.

Феномен миграции митохондрий свидетельствует о возникновении дистанционной реакции энтероцита на приближение микробной клетки. Чисто в методическом отношении феномен миграции митохондрий позволяет быстрее и успешнее отыскивать локусы взаимодействия шигелл с эпителием. По своему механизму это взаимодействие, по всей видимости, обусловлено контактом фимбриальных адгезинов микробов с рецепторами клеток эпителия. Фимбрии шигелл можно заметить на электронных снимках в виде слабоконтрастных тяжей. Для популяционного аспекта адгезии молекулярные взаимодействия возбудителя с эпителием являются данностью, которая далее нами не детализуется.

4.3. Методические особенности измерения и моделирования адгезии микробов к слизистой оболочке кишечника человека.

Эксперимент по воспроизведению адгезии на кишечном препарате начинается с заполнения полости кишечного фрагмента суспензией микробов. После этого требуется 30 – 40 минут для завершения процесса. Так как свыше этого интервала времени уровень адгезии не меняется, нам удобно было увеличить экспозицию до 60 минут.

Прикрепившиеся микроорганизмы состоят из 2 фракций. Часть из них находится в складках поверхности, а некоторые, как показывает микрофотография на рис. 4.1, могут оказаться в непосредственной близости к поверхности мукозного слоя, однако без признаков прочной связи с ним. Все такие микроорганизмы составляют фракцию «непрочно связанных» микробов, которая соответствует представлению о «неспецифической» адгезии (docking – в англоязычной лит-ре).

Другая часть составляет фракцию «прочно связанных» микроорганизмов или фракцию специфической адгезии (anchoring – в англ. лит-ре). Чтобы её выявить после 60-минутной экспозиции суспензии производят осторожную отмывку (элюцию) непрочно связанной фракции микробов, путём пропускания через кишечный препарат забуференого до pH 7.2 изотонического раствора хлористого натрия.

Но что значит «осторожно»? Это значит так, чтобы не нарушить микроанатомической структуры слизистой оболочки. Если отмывание ведётся через просвет кишки (есть и другие способы) то задаётся такой напор отмывочного раствора, чтобы кишечная трубка не слишком раздувалась, а в промывочной жидкости не появлялись оторванные ворсинки. Этому требованию в наших условиях удовлетворяло напорное давление не выше 600 мм водяного столба.

В специальной серии опытов, удалось установить, что содержание микроорганизмов в отмывочном растворе («динамика элюции») характеризуется 2 пиками и 2 минимумами с последующей стабилизацией. Семейство кривых на рис. 4.3. даёт наглядную картину этого процесса. Первый пик, как и ожидалось, приходится на начало отмывания. К 20-й минуте он сменяется первым минимумом, который составляет около 1/10 первоначального уровня. Затем, между 20-й и 40-й минутой наблюдается второй пик – подъём, не превышающий 1/3 начального значения. Далее содержание микробов в отмывочном буфере снова падает, достигая второго минимума. Процесс стабилизируется, медленно снижаясь, на протяжении почти 12 часов.

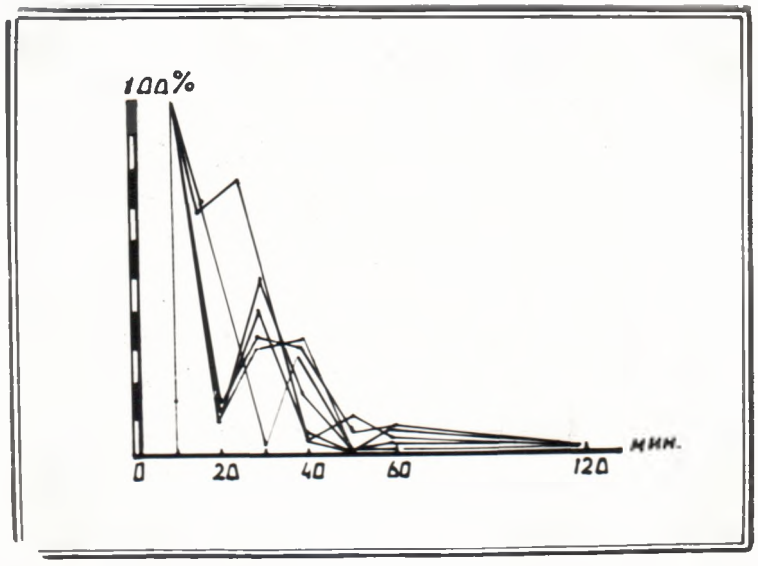

Рис.4.3. Динамика элюции микробов. Наличие двух пиков – между 0 и 20 минутами, между 20 и 60 минутами.

Таким образом, существует, по крайней мере, 2 уровня отмывочного процесса. Первый - быстрый, от 0 до 20 мин., когда, по-видимому, отмывается основная масса т. наз. «непрочно связанной» фракции микроорганизмов. Второй - медленный, который начинается между 20-й и 40-й минутой, продолжаясь далее много часов. Второй уровень, по всей видимости, является началом отмывания специфической, «прочно связанной» фракции. Из этого следует вывод, что при любом варианте методики отмывки, нужно находить момент окончания отмывания непрочно связанной фракции, чтобы количество оставшихся на слизистой микробов использовать для измерения специфической, т. е. прочно связанной адгезии.

Для численной оценки адгезии необходимо отмытый кишечный фрагмент посеять для подсчёта колоний. С этой целью кишечный препарат полностью дезинтегрируется, дезинтеграт сеется на агаризованую среду и экспонируется в термостате. Если использовать для подсчёта достаточно большие разведения, количество выросших колоний (КОЕ) будет мало отличаться от количества микробных клеток. И тогда, зная площадь слизистой оболочки и подсчитав, сколько на её поверхности было колоний прочносвязанных микроорганизмов можно вычислить показатель уровня адгезии (размерность: мко/см ^{2}, мко/мм ^{2}) по формуле (12) или рабочей формуле (16).

Так как жизнеспособность кишечного препарата весьма непродолжительна, а промывочное устройство достаточно громоздко, мы заменили перфузию отмыванием нарезанного кусочками кишечного фрагмента в режиме 4-кратного шутелирования в сменяемом забуференом изотоническом растворе. После такого отмывания предварительно измеренные отрезки кишки, помещались в стеклянные флакончики с 0,15 мл раствором трипсина и целиком дезинтегрировались вращением острых магнитиков на магнитной мешалке. Дезинтеграт разводился и по 0,1 мл сеялся и растирался шпателем на агаровых пластинках. После суточной экспозиции в термостате подсчитывалось число колоний. Уровень адгезии – С рассчитывался по рабочей формуле:

$$C = \frac{m\,V}{l\,a\,v}\,Q \qquad (16)$$

где: m – число колоний на чашке, V- объём дезинтеграта, l- длина кишечного фрагмента, a – его ширина, v- объём засеянного дезинтеграта, Q-кратность разведения посевного материала.

Однако всегда может возникнуть подозрение, что всё представленное выше является на самом деле артефактом, обусловленным использованием экстирпированной ткани in vitro. На это, в своё время, мы обратили особое внимание. Были поставлены проверочные опыты на белых беспородных мышах с использованием видоспецифичного возбудителя S. typhimurium, так как шигеллы для мышей неадгезивны и небиопатогенны.

Мыши оперировались под гексеналовым наркозом. Брюшная стенка послойно вскрывалась. Высвобождался участок тонкой кишки, на который на расстоянии 3 см друг от друга накладывалось 2 лигатуры. Между ними шприцом вводилась суспензия сальмонелл (контроль).

У той же мыши рядом с лигированным участком иссекался фрагмент той же длины и ставился эксперимент по методике, приведенной выше. После 45 минут экспозиции лигированный участок иссекался и подвергался идентичной процедуре измерения уровня адгезии. Было установлено, что уровень адгезии бактерий в обоих фрагментах был одинаков. Поэтому все сомнения в том, что экстирпация кишечника и проведение опыта in vitro искажает адгезионный процесс, отпадают.

Если эти данные доказывают, что предложенная модель отражает действительные отношения между популяцией возбудителей и слизистой оболочкой кишечника человека, то возникает следующий вопрос – насколько эти отношения видо - и органоспецифичны. Для этого мы сравнили между собой максимумы адгезии шигелл Флекснера к слизистой тонкого кишечника мыши, к слизистой оболочке бронха человека, к слизистой тонкого кишечника человеческого плода и взрослого человека. Результаты приведены в табл. 4.2.:

Таблица 4.2.
Максимальные уровни адгезии шигелл Флекснера к слизистым оболочкам разного происхождения.

Объект	Мко/мм^2
Тонкий кишечник мыши	126 ± 39
Бронх человека	164 ± 70
Тонкий кишечник плода человека	3096 ± 937
Тонкий кишечник взрослого человека	4275 ± 1475

Данные таблицы (4.2) показывают, что адгезия шигелл к слизистой кишечника человеческих плодов и взрослого человека достаточно близка. Вместе с тем, адгезия к слизистой бронха человека существенно меньше, а к слизистой мыши ещё меньше. Отсюда становится понятным, почему шигеллы, будучи высокопатогенным антропонозным видом, никогда не вызывают поражений бронхов, и почему мыши не могут заболеть шигеллёзом. Это является доказательством тому, что адгезия шигелл на слизистой тонкого кишечника плодов и взрослого человека видоспецифична.

4.4. Кинетика и динамика адгезии.

Поскольку адгезия не признак (микроба, эритроцита или организма), а процесс, она должна характеризоваться скоростью и зависимостью от дозы. Скорость – это развитие процесса во времени, т.е. кинетика (от греч. *κινετικοσ* - движение). Оценка кинетики адгезии необходима для формирования достоверных представлений о прикреплении микроорганизмов к поверхности слизистой оболочки кишечника человека, а также для решения методических вопросов.

Зависимость от дозы – это выражение его динамики (от греч. *δινάμοσ* - сила). Оценка динамики адгезии необходима для реалистических представлений о значении дозы при заражении слизистой оболочки человека.

На рис. 4.3 и 4.5 представлены графики кинетики и динамики адгезии шигелл Флекснера к слизистой оболочке тонкого кишечника человека. Кривая кинетики адгезии показывает, что в интервале 45 – 60 минут слизистая кишечного препарата насыщается шигеллами до предела, что отражено в записи символа C_{max}. Здесь и далее под уровнем адгезии мы будем понимать эту предельную величину, т.е. C_{max}.

Вместе с тем становится понятно, что адгезия далеко не мгновенный акт, что чем длительнее в пристеночном слое находятся возбудители, тем больше их прикрепляется. Но, по крайней мере, для шигелл, существует порог, выше которого уровень адгезии подняться не может. По-видимому, наступает насыщение предсуществующих сайтов адгезии. Однако о состоянии насыщения можно судить лишь в том случае, если результат не искажается размножением бактерий. Поэтому исследование кинетики и динамики велось в условиях недостижимых в организме: в интервале температур +(6-8)^{0}С.

Обсудим допустимость и необходимость проведения таких исследований при нефизиологической температуре. Возвращаясь к рис. 4.1, не трудно заметить, что взаимодействие микроба и слизистой оболочки происходит за счёт наружных «надмембранных» структур, а не вещества цитоплазмы. Это значит, что взаимодействие между их внешними поверхностями имеет физико-химическую природу. На примере адсорбции, имеющей также физико-химическую природу, доказано, что тепловое (броуновское) движения способствует разрыву сил сцепления. Поэтому при пониженной

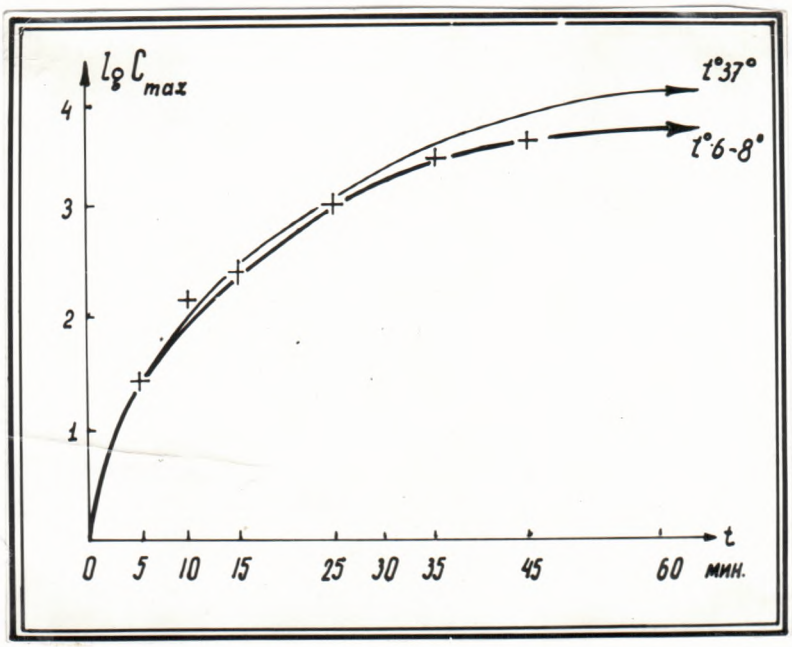

Рис.4.4. Кинетика адгезии шигелл к слизистой оболочке тонкого кишечника человека.

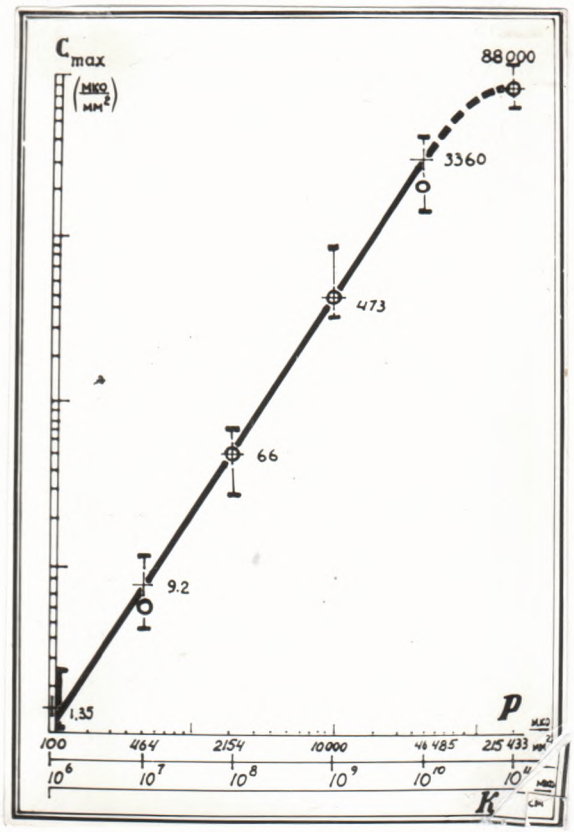

Рис. 4.5. Динамика адгезии шигелл к слизистой оболочке тонкого кишечника человека в мко/$мм^2$

температуре силы сцепления на много прочнее, чем при более высокой. Кроме того, при нормотермии ($+37^0C$) активизируется жизнедеятельность микробов и эпителия, что может вуалировать адгезию, как физико-химическое взаимодействие между микробами и эпителием.

Наши данные показали, что численное значение уровня адгезии при +37°С возрастает почти в 2 раза. Это совпадает с тем, что за время наблюдения как раз происходит естественное удвоение численности популяции. Ведь время генерации шигелл Флекснера в кишечном препарате практически равно 28 минутам.

Динамика адгезии шигелл также имеет ряд особенностей, в основе которых лежат фундаментальные закономерности взаимодействия популяции возбудителя со слизистой оболочкой кишечника. Первая из них состоит в том, что существует нижний предел поверхностной концентрации (т.е. плотности распределения шигелл в пристеночном слое) - *P*. Этот минимум приходится на уровень концентрации $P = 100$ мко/мм^2 . Такая поверхностная концентрация образуется в случае введения микробной суспензии концентрацией $K = 10^6$ мко/см^3 (см. табл. 4.3) . Из этого следует, что для адгезии, как начального этапа заражения, концентрация, важнее даже инфекционной дозы (если, конечно под дозой подразумевать только арифметическую сумму микробных

Таблица 4.3

Параметры процесса адгезии Sh. flexneri к слизистой оболочке кишечника человека

Объёмная концентрация заражающей суспензии (К) мко/см^3	Поверх-ностная концентра ция (Р) мко/мм^2	Уровень адгезии (C_{max}) мко/мм^2	Удельная доза (D)	Коэффициент адгезии *(u)*	Минимальная площадь контаминации (Δs) (мм^2)
10^6	100	2,3	43,5	$2.3 \cdot 10^{-2}$	0.435
10^7	464	7.5	62	$1,6 \cdot 10^{-2}$	0.133
10^8	2154	6,6	32,6	$3,06 \cdot 10^{-2}$	0.015
10^9	10000	473	21	$4,73 \cdot 10^{-2}$	0.0021
$9,45 \cdot 10^9$	**44700**	**3140**	**14.12**	$7,02 \cdot 10^{-2}$	**0,000318**
10^{10}	46400	3360	13,7	$7,3 \cdot 10^{-2}$	0.000298
10^{11}	215433	8860	24,3	$4,1 \cdot 10^{-2}$	0.000112

клеток). Таким образом, теоретически, можно ввести в полость кишечника какое угодно большое количество («дозу») микроорганизмов, но если её концентрация не обеспечит достаточного значения поверхностной концентрации, заражение не наступит.

Вторая особенность состоит в том, что концентрация микробов в пристеночном слое - *P* всегда значительно *больше* уровня адгезии (C_{max}). Именно в этом проявляется *защитная барьерная функция слизистой оболочки*. Если бы её не было, микроорганизмы свободно проникали во внутреннюю среду организма, а уровень адгезии был бы равен или даже превышал величину *P*.

Третья особенность, повторимся, состоит в том, что уровень адгезии шигелл имеет ещё верхний предел. То есть, превышение максимума поверхностной концентрации не будет сопровождаться таким же увеличением C_{max}. Это может быть расценено как наличие на слизистой оболочке стабильного числа рецепторов или «сайтов адгезии». Вполне возможно, что эту функцию выполняют так наз. «М- клетки», отличающиеся от энтероцитов редуцированной щёточной каёмкой и гликокаликсом. На нашей модели такие клетки наблюдались, но достаточно часто встречались нормальные энтероциты

со щёточной каёмкой деформированной прилипшей шигеллой (рис.4.6) .Поэтому нельзя исключать и следующего объяснения.

Существование порога может быть связано с тем, что адгезия - динамическое равновесие между непрерывным прилипанием, сменяющимся отлипанием. Иными словами, возможно адгезия и десорбция - равновесный процесс, уровень которого пропорционален величине *P*. Пока отсутствуют данные, позволяющие отдать предпочтение какой-нибудь одной из двух приведенных трактовок. Не исключено, что истина находится посредине и оба механизма имеют место.

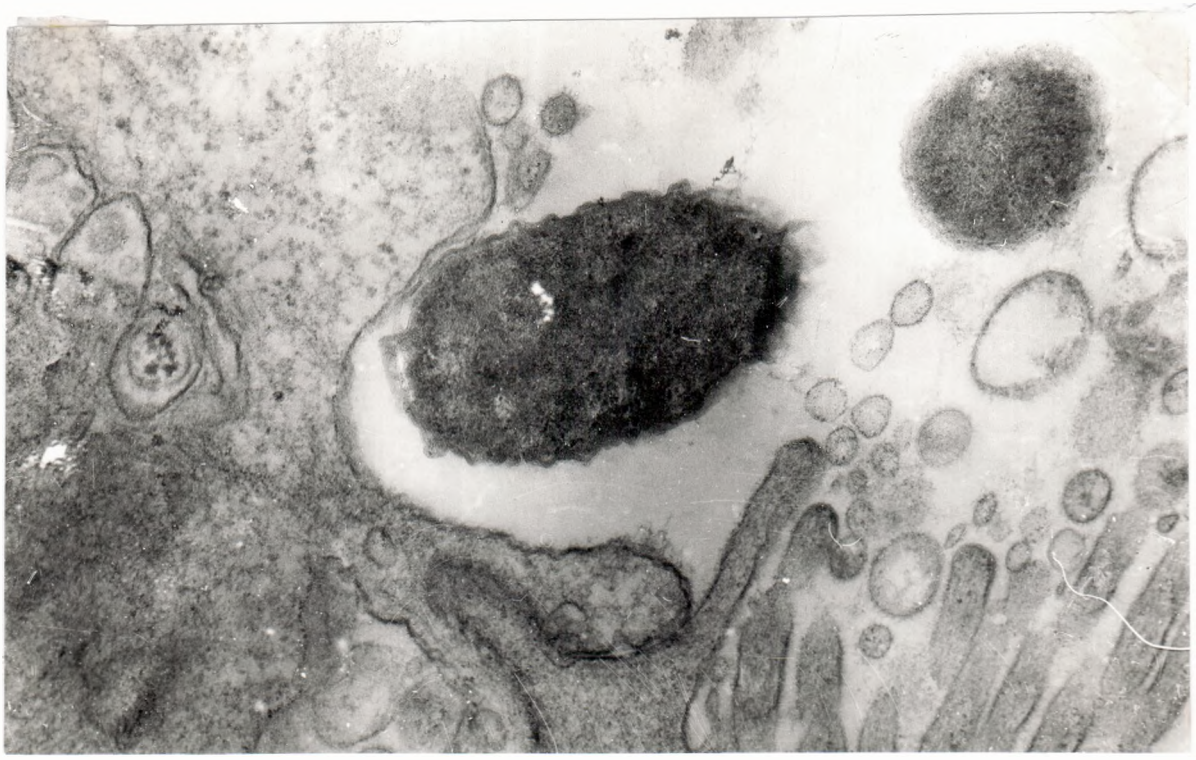

Рис.4.6. Конечный этап адгезии и начальная стадия проникновения шигеллы на стыке двух энтероцитов. Выраженная пинофагоцитозная реакция энтероцита слева. Упорядоченная регулярная структура микроворсинок. Непосредственно под шигеллой отсутствуют микроворсинки. Закручивание микроворсин энтероцита справа. Радиальная структура микрокапсулы шигеллы. Ув.30000.

Динамика адгезии и сопоставление уровней адгезии с поверхностной концентрацией возбудителя –*P* показывают, что для адгезии каждой микробной клетки нужен её избыток в пристеночном слое.

Резюме

Адгезия возбудителей специфична и является обоюдным взаимодействием с субстратом – тканью входных ворот инфекции (слизистыми оболочками). «Адгезивность» измеряется по отношению к формалинизированным эритроцитам и другим клеткам, не

застроенным в ткань, и поэтому представляет собой искусственный лабораторный тест. Адгезия шигелл к слизистой оболочке кишечника человека зависит от поверхностной концентрации, имеет свой нижний и верхний пределы, причем, всегда существенно ниже поверхностной концентрации. Поэтому для адгезии каждого микроба всегда нужен некоторый его избыток в пристеночном слое.

Измеряй всё. Делай измеримым
неизмеримое.
Г. Галилей

Глава 5

ПАРАМЕТРЫ НАЧАЛЬНОЙ ФАЗЫ ЗАРАЖЕНИЯ

5.1. Показатель барьерной функции слизистой оболочки

В свете изложенного становится ясным, что самой существенной характеристикой адгезии является соотношение между экспонированным (P) и адгезированным количеством микроорганизмов (C_{max}). Обе величины имеют одинаковую размерность - (число микроорганизмов / см^2 или мм^2) и поэтому их можно сравнивать. Соотношение адгезированных и экспонированных микробных численностей отражает *коэффициент адгезии.* Его величина выражает меру *восприимчивости / невосприимчивости* слизистой оболочки к адгезии возбудителя, как проявление её *барьерной функции,* которую мы обозначаем символом u:

$$u = \frac{C_{max}}{P} \qquad (17)$$

Определение. *Коэффициент адгезии характеризует барьерную функцию слизистой оболочки, оценивается отношением числа адгезированных микроорганизмов к их концентрации в пристеночном слое.*

Если значения u в табл. 4.3 перенести на график (см. рис. 5.1) мы получим примечательную картину зависимости коэффициента адгезии от микробной концентрации в просвете кишки. При малых её значениях вплоть до экспозиции суспензий с $K = 10^6 - 10^7$ значение коэффициента u незначительно, значит барьерная функция слизистой оболочки эффективно справляется со своим предназначением и адгезия возбудителей практически отсутствует. Но выше этого рубежа коэффициент резко, более чем в 10 раз, возрастает. По-видимому, барьерная функция не выдерживает возросших концентраций возбудителей. Но при дальнейшем увеличении концентрации значение коэффициента резко падает. Казалось бы, что с ростом концентрации, коэффициент должен возрастать ещё больше, а он, наоборот, снижается. Как это объяснить?

Причина в том, что в норме общее содержание микробов в химусе кишечника человека существенно ниже 10^7 *мко / мл* (P = *46415 мко/см^2*) Поэтому структура поверхности (особенно физико-химическая) и функция слизистой адаптированы к тому, чтобы при таких концентрациях адгезия не происходила. Однако при более высоких концентрациях структура слизистой оболочки уже не может препятствовать адгезии.

которая начинает расти, пока P не достигнет критического значения, порядка 4600000 клеток на $см^2$ (К= 10^{10} мко/мл). Выше этого порога количество свободных сайтов адгезии, по-видимому, исчерпывается, уровень адгезии достигает своего предела, и поэтому коэффициент адгезии резко падает.

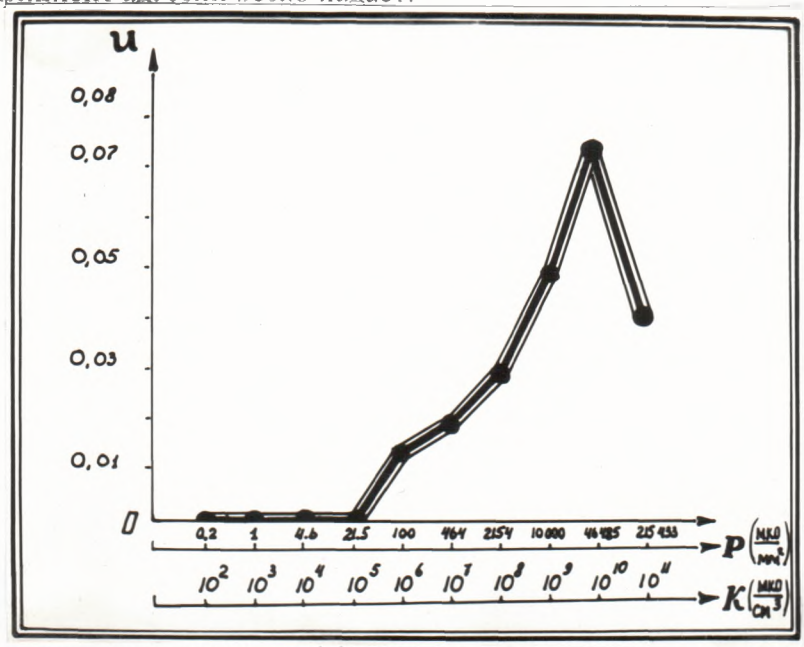

Рис. 5.1. Динамика изменения коэффициента адгезии шигелл к слизистой оболочке кишечника человека в зависимости от концентрации возбудителя в просвете.

Эта закономерность приобретает значение, когда рассматривается роль численности заражающей популяции для дальнейшего развития инфекционного

Таблица 5.1.

Значения коэффициентов адгезии $u \times 100$ некоторых патогенных и непатогенных микроорганизмов для кишечника человека и белых мышей (отмечено **), по данным автора, а также А. В.Григорьева и И.В. Домбровской.

Объёмная концентрация. К мко/см³	Поверхностная. концентрация Р мко/см²	Коэффициент адгезии u ×100 *)						
		Shigella flexntri	Corynebacterium diphtheriae var.mitis	Corynebacterium striatum **	Salmonella. typhimurium **	Aerococcus viridans **	Bifidobacterium bifidum **	Bacillus subtilis **
10^6	10^4	2,3	2,1	9	-	0,3	15	0,6
10^7	46415	1,6	9	18	5,25	0,7	65	0,7
10^8	215443	3,06	21	23	16,99	0,4	36	0,9
10^9	10^6	4,7	6	8	41,00	0,3	12	0,8
10^{10}	4640000	7,3	-	-	21,5	-	-	-
10^{11}	21544000	4,1	-	-	-	-	-	-

*) *При расчетах значение u, обозначенное в таблице, следует делить на 100.*

процесса. Зная численное значение коэффициента адгезии u (см., табл.4.3 или 5.1), можно оценить многое. Например, с помощью расчёта по формулам (14) и (17) не трудно установить какой будет уровень адгезии C_{max} в зависимости от введенной дозы микроорганизмов. При этом могут быть получены значения плотности расположения микроорганизмов на поверхностях слизистой оболочки, представляющие интерес для понимания роли и функции инфекционных доз [6,7,8,9,30,31]. К сожалению, общепринятый способ оценки инфекционной дозы, как микробного числа на мл суспензии или на кг веса животного или человека, очень далёк от условий естественного заражения. И его несоответствие с природой начинается с оценки концентрации.

5.2. О «химической» и «биологической» концентрации

Привычные представления о концентрации, как числе микробов на единицу объёма суспензии («объёмная концентрация») явно заимствованы из химии, и пришли в микробиологию вероятно ещё с Луи Пастером. Ведь концентрация микробов на мл или $см^3$ рассчитывается также как концентрация глюкозы или поваренной соли.

В отличие от микробиологии, в других биологических дисциплинах мало кто соотносит число особей (растений, грибов, животных) с кубическими объёмами. В оценке жизни популяций всегда особое место занимает доля свободной поверхности, приходящейся на одну особь. Для её оценки в микробиологических исследованиях необходимо оценивать среднее расстояние между микробными телами по формуле:

$$\ell = \frac{1}{\sqrt{P}} \qquad (18)$$

Этот показатель может быть использован для вычисления концентрации по среднему расстоянию между центрами запечатлённого на микрофотографиях микробного скопления. Попытаемся его использовать для того чтобы воссоздать и проанализировать картину адгезии в пространстве пристеночного слоя и поверхности эпителия. Рассмотрим случай, когда в полость кишечника введена максимальная, или М-концентрация шигелл, составляющая величину $K = (1,8 - 2)\cdot 10^{9}$ мок/мл (см. гл.1). По данным таблицы 4.1 и 5.1, такая объёмная концентрация образует в пристеночном слое P =1000000 мко/см^2. Расчёт по формуле (18) даёт нам среднее расстояние между микробами ℓ = (1/1000)см = 10 микрометров. Но 10 микрометров это приблизительно равно поперечнику эритроцита. Поэтому мы вправе представить, что над каждой клеткой «висит» в среднем 1 бактерия. При этом адгезируется лишь небольшая часть от величины P: $C_{max} = uP = 4,72\cdot 10^{-2}\cdot 1000000 = 2118$ *мко/см*^{2}. Среднее расстояние между адгезированными бактериями на поверхности эпителия составит l=217 мкм. Значит, адгезия происходит на каждой 20-й – 21-й эпителиальной клетке.

Если взять ещё более высокую поверхностную концентрацию, например P = 4642400, ($K = 10^{10}$), среднее расстояние между микробами в поверхностном слое над эпителием в пристеночном слое составит всего 4,6 мкм. В этом случае над каждой клеткой будет «висеть» примерно 4 бактерии. Согласно расчёту уровень адгезии должен составит: $C_{max} = uP = 7,24\cdot 10^{-2}\cdot 4642000 = 336080$ *мко/см*^{2}. При таком уровне среднее расстояние между адгезированными на эпителии шигеллами будет l = 17 *мкм*, что почти в 12 раз меньше чем предыдущее значение l=*217мкм*. Это значит, что адгезия осуществится на уровне почти каждой второй эпителиальной клетки.

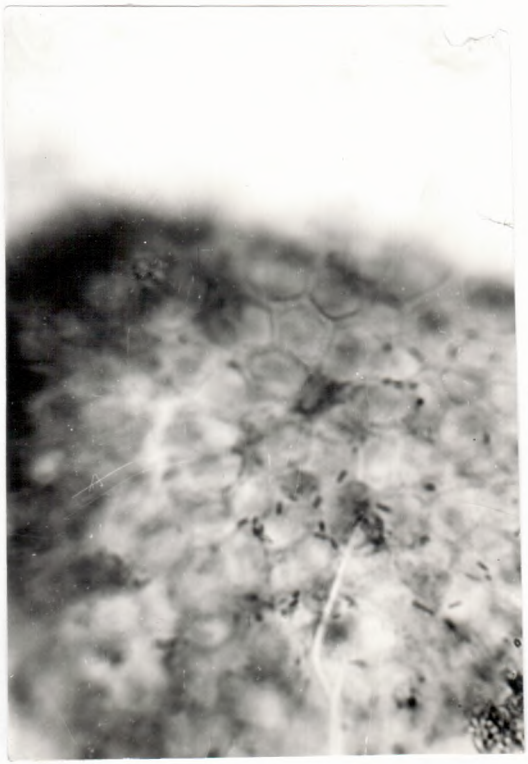

Рис. 5.2 Поверхность ворсинки слизистой оболчки кишечника человека с адгезированными шигеллами Клетки эпителия образуют сеть шестигрнников, шигеллы видны в форме коротких тёмных палочек, но только в фокальной плоскости. Перифокальная область на фтографии неконтурируется.

То, что расчёт близок к реальности, может служить микрофотография рис. 5.2, на которой показана поверхность эпителия кишечника человека с адгезированными шигеллами при $K = 10^{10}$.

Возникает вопрос – почему при концентрации 10^9 адгезия осуществлялась над каждым 20-м энтероцитом, а при концентрации 10^{10} над каждым вторым? Значит ли это, что в первом случае только каждая 20-я клетка была способна к адгезии? Но тогда почему во втором варианте восприимчивой становится каждая вторая?

Конечно, во втором случае концентрация в поверхностном слое была в 10 раз больше, и можно предположить, будто имело место, идущее из пристеночного слоя более сильное токсическое воздействие. Но это приходит в противоречие с тем, что опыт специально проводился в условиях гипотермического анабиоза, как для бактериальных, так и эпителиальных клеток. При температуре $+(6\text{-}8)^0$C жизнедеятельность бактериальной клетки ингибирована и есть все основания считать, что её экскреторная

функция не действовала. С другой стороны Холодовой гипобиоз эпителиальных клеток едва ли мог способствовать активизации адгезивного взаимодействия с микроорганизмами. Следовательно, оба участника адгезионного процесса могли взаимодействовать только за счёт физико-химических сил. Поэтому принять токсическую гипотезу нет оснований.

Действительная причина более тривиальна. Давно известна эмпирическая закономерность – как правило, адгезируется (и адсорбируется) не весь пристеночный слой, а только его часть и притом, количество адгезированного или адсорбированного материала, *пропорционально экспонированной концентрации*, но не совпадает с ней, так как всегда меньше её. Это, с позапрошлого столетия, отражено в уравнениях изотермы адсорбции, начиная с Гиббса, Ленгмюра, Фрейндлиха и др. То есть причину следует искать не в особой рефрактерности эпителиоцитов, а в известных физических закономерностях, адсорбционных и, подобных им, адгезионных процессов. Принцип Оккама *) заставляет отдать предпочтение именно этой гипотезе, то есть считать, что всегда $C_{max} < P$. И это всегда нужно учитывать при оценке инфекционных доз.

5.3. Статистическая, патогенетическая и удельная инфекционная доза

Заражение – это захват нового ареала обитания. В природе захват нового ареала обитания, не осуществляется одиночной особью. Всегда требуется некоторая критическая численность, ниже которой захват становится неэффективным. В микробиологии это учитывается в величине инфекционной дозы (*ID*), с указанием в индексе % эффективно зараженных «ареалов» - животных либо людей (например ID_{50}). Фактически такое исчисление *ID* имеет смысл *статистической* дозы. Её рассчитывают для совокупности хозяев. Ими могут быть группы волонтёров, лабораторных животных, куриных эмбрионов, клеток в культуре и т.п.

Доза, которая оценивается при введении микроорганизмов в кишечный препарат или отдельный организм отличается тем, что является *патогенетической, а не среднестатистической*, потому что она обусловливает темп развития инфекции, её патогенез в конкретном организме. Она зависит от закономерностей инфекционного процесса, индивидуальной природы объекта заражения, и не может зависеть от численности и вариабельности совокупности хозяев, как потенциальных ареалов.

Введём определение.

Определение. *Количество возбудителей, обусловливающее возникновение и развитие инфекционного процесса в конкретном организме, является патогенетической дозой*

Патогенетическая доза обнаруживает себя в двух фазах. Вначале это *пристеночная доза*, которая оценивается величиной *P*. Далее пристеночная доза преобразуется в *адгезионную дозу*, соответствующую параметру C_{max}. В обоих случаях она охватывает не весь организм, не весь желудочно-кишечный тракт и не всю слизистую оболочку, а только небольшую площадку или *площадь контаминации* - S.

Следовательно, *микробная численность дозы* (B_P) для пристеночного слоя составит:

$$B_P = PS \qquad (19)$$

Микробная численность адгезионной дозы (B_A) составит:

$$B_A = C_{max} S \qquad (20)$$

---

*) Оккам Уильям (1285-1349), англ. философ. «Бритва Оккама» - часто используемый в современной физике принцип, согласно которому, первыми должны рассматриваться гипотезы, дающие простейшее объяснение проблемы.

Из приведенных соотношений следует, что пристеночная доза имеет одновременно 2 измерения - плотность распределения по поверхности и площадь контаминации. Подобным образом адгезионная доза тоже имеет 2 измерения – число микробов и поверхностная концентрация (либо C_{max}). Такая двузначность не должна удивлять или вызывать возражения. Любая доза, даже ID_{50}, тоже имеет двойное измерение, так как обязательно, кроме численности микробов или титра вирусов (первое измерение), содержит указание на объём, в котором они содержатся (второе измерение).

Удельная доза. Пристеночная и адгезионная доза позволяют ввести ещё одну, едва ли не самую показательную характеристику - среднее количество микробов, необходимое для адгезии 1 микробной клетки. Это *удельная доза D*:

$$D = \frac{P}{C_{max}} \qquad (21)$$

Если это сравнить записью значения коэффициента адгезии (17) то станет ясным, что удельная доза обратно пропорциональна коэффициенту адгезии или, что то же, показателю барьерной функции эпителия – u:

$$u = \frac{1}{D}; \qquad D = \frac{1}{u} \qquad (22)$$

Определение. *Удельная доза - это количество микроорганизмов пристеночного слоя, приходящееся на 1 адгезированную микробную клетку.*

Как видим, по сравнению со статистической дозой ID_{50}, оценка патогенетической дозы намного сложнее. Однако эта сложность окупается определёнными выигрышами.

Первый выигрыш состоит в том, что пристеночную дозу становится возможным оценивать как для жидкого, так и для плотного заражающего материала. В самом деле - для этого достаточно в плоскости раздела фаз «плотный материал – слизистая», определить величину P и S.

Второй выигрыш состоит в том, что, установив пристеночную, можно в эксперименте оценить адгезионную дозу, которая явно определяет стартовые условия для дальнейшего проникновения возбудителя вглубь организма.

Третий выигрыш состоит в том, что становится доступной оценка *невосприимчивости* (*барьерной функции*) см. (17), которая до сих пор в медицинской литературе звучала скорее как заклинание, чем как реальный параметр, доступный лабораторному определению.

Четвёртый выигрыш: может быть определено значение нового параметра - удельной дозы.

Пятый выигрыш – мы получаем действительную картину взаимодействия микробной популяции со слизистой оболочкой кишечника, вместо *tabula rasa*, которую даёт статистическая доза.

Поэтому закономерности, установленные на модели адгезии шигелл в кишечнике человека, показывают, что в действительности скрывается под термином «заражающая доза». А также, каким не простым способом биопатогенный возбудитель, захватывает главный для него ареал обитания в организме – слизистую оболочку. Вначале бесструктурная рандомическая микробная совокупность нависает над слизистой. Затем, за счёт избыточного накопления на некотором участке слизистой (площади контаминации), она получает возможность своей пристеночной частью адгезироваться, и проникнуть сквозь мукозный слой. Лишь тогда обеспечивается прямой контакт с наружными мембранными и поверхностными структурами эпителиоцитов. С этого момента стихии случайности приходит конец. Возбудитель преобразуется в активного

организатора заражения. Формируется стартовая позиция - совокупность адгезированных на внешних поверхностях эпителия микроорганизмов. Без такой организации возникновение инфекционного процесса было бы невозможно. В том, как эта стартовая позиция реализует патогенный потенциал возбудителя – в нашем случае шигеллы Флекснера, - будет рассмотрено в следующей главе.

Резюме

В адгезионном процессе проявляется барьерная функция эпителия, заключающаяся в том, что прикрепляются не все, а значительно меньшее число микробов, чем содержится в пристеночном слое. Эту закономерность отражает коэффициент адгезии, имеющий смысл показателя восприимчивости/невосприимчивости слизистой к адгезии патогенов. Удельная доза – обратная величина коэффициента адгезии, которая дополнительно характеризует эту фундаментальную закономерность. Коэффициент адгезии, характеризующий восприимчивость эпителия, позволяет, не прибегая к опыту, рассчитать количество адгезированных микроорганизмов при экспозиции любой их концентрации. Численные значения приведенных показателей позволяют определить условия, при которых неорганизованная микробная масса в кишечнике, переходит в патогенетически детерминированное состояние – дозу, обусловливающую стартовые условия предстоящего инфекционного процесса. Следует различать статистическую, патогенетическую и удельную инфекционную дозу.

Часть 3

ОТ МИКРОПОПУЛЯЦИИ К МАКРОПОУЛЯЦИИ

В экспериментальных работах надо сомневаться
до тех пор, пока факты не заставляют
отказаться от всех сомнений
Л.Пастер

Глава 6
РОСТ ПОПУЛЯЦИИ ВЛЗБУДИТЕЛЯ В ПЕРВИЧНОМ ОЧАГЕ ИНОКУЛЯЦИИ

В предыдущей главе было показано, каким образом за счёт адгезионного процесса формируются стартовые условия для последующего размножения возбудителя. Адгезия, следующее за ней проникновение во внутреннюю среду организма и формирование первичного фокуса инфекционного поражения (для шигелл,- это инвазия энтероцитов) представляют собой стандартную схему заражения для биопатогенных возбудителей, проникающих через слизистые оболочки. Поэтому исследование проникновения в слизистую оболочку возбудителей дизентерии Флекснера отражает не только шигеллёзные, но и общие закономерности развития биопатогенной популяции в процессе заражения. Этапы этого процесса можно было бы назвать «несущим механизмом» инфекции. А сама болезнь – это уже ответная реакция организма хозяина.

6.1. Ультраструктурный анализ развития популяции шигелл в кишечном эпителии.

На рис. 6.1, - 6.3 представлены ультратонкие срезы энтероцитов слизистой оболочки человека, на которых прослеживаются последовательные фазы инвазии - проникновения шигеллы Флекснера 2а в цитоплазму клеток. Процесс начинается с «прижимного действия» на микроворсинки (рис.4.1-4.2), далее наблюдаются различные фазы пинофагоцитоза вплоть до глубокого охвата бактериальной клетки. Принято называть это явление «инвазией». Энтероцит буквально поглощает неспособную к

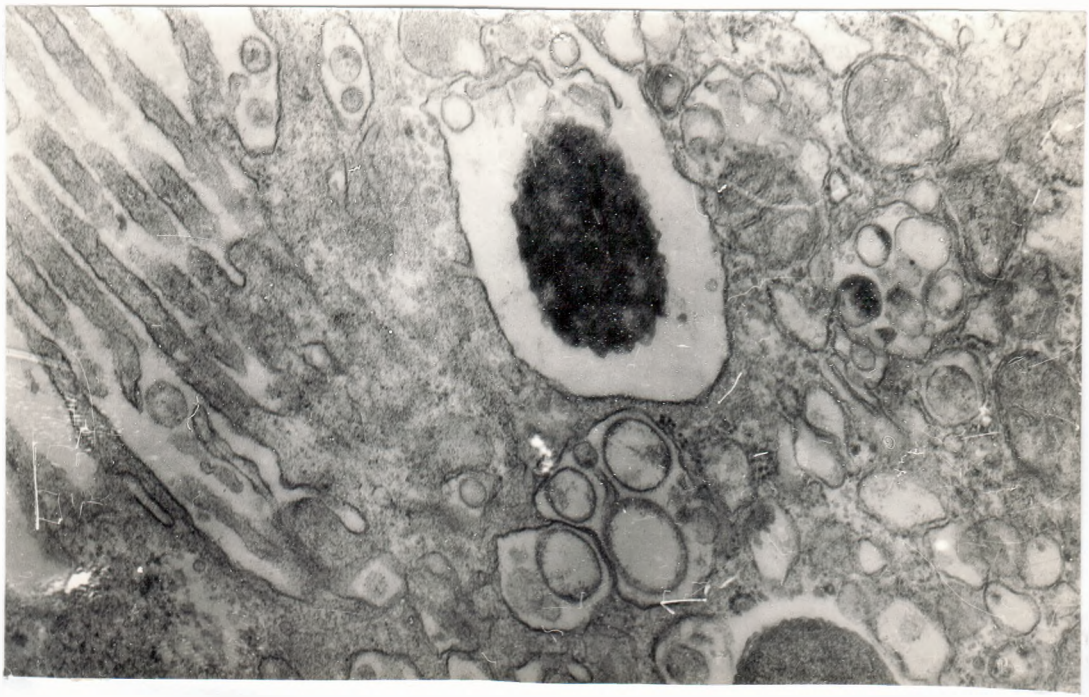

Рис. 6.1. Проникновение шигеллы в энтероцит человека по типу пинофагоцитоза. Начальная стадия формирования пинофагоцитарной вакуоли.

активному движению шигеллу, окружает её мембраной, (т.е. формирует вакуоль), которая в цитоплазме тут же лизируется, а возбудитель без задержки начинает размножаться делением. В конце концов, цитоплазма клетки оказывается нафаршированной возбудителями (рис.6.2-6.3).

Рис. 6.2. Внутриклеточное размножение шигелл. Тесный контакт апикального отдела бактериальной клетки с цитоплазмой энтероцита и митохондриями. Цитоплазматическая вакуоль лизирована.

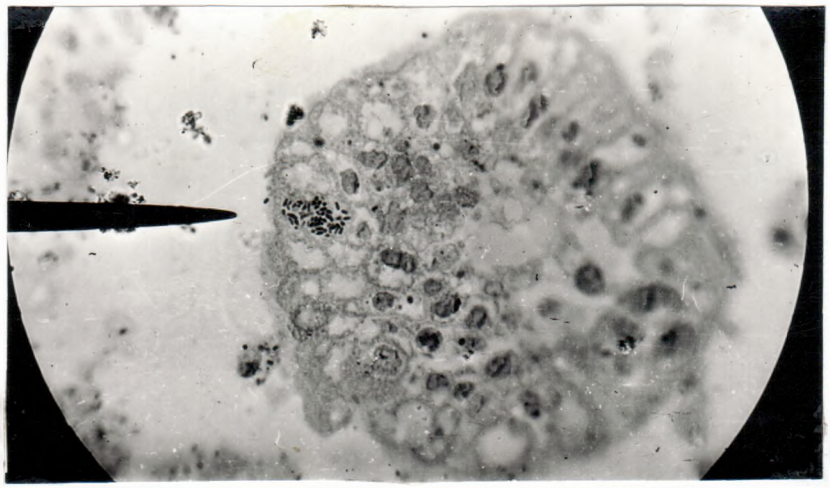

Рис. 6.3. Полутонкий срез ворсинки кишечника с энтероцитом, в котором размножились шигеллы, достигнув М-концентрации. Отсутствуют признаки проникновения шигелл в межклеточное и подслизистое пространство.

В целом рассмотренная картина проникновения шигелл в энтероциты не противоречит данным других авторов, что лишний раз доказывает адекватность нашей модели. Анализ этих микрофотографий позволяет выделить 2 частные закономерности.

Первая состоит в том, что инвазия более всего походит на пинофагоцитоз, то есть на активную реакцию эпителиоцита, поглощающего «привлекательный» пищевой объект. Привлекательность» быстро оборачивается гибелью. Шигеллы, как показывает гистологический срез (рис 6.3), интенсивно размножаются в клетке, формируя микроколонию, что является начальным этапом развития популяции в тканях организма.

Вторая закономерность состоит в том, что микроколония шигелл остаётся в пределах клетки, осумкованная оболочкой поражённого энтероцита. Вопреки сложившемуся убеждению, шигеллы *не переходят в примыкающие к ним эпителиальные клетки,* по крайней мере, в течение времени эксперимента. Ибо на это они не способны, так как не имеют органов движения. Тогда каким образом дальше распространяется (диссеминирует) популяция в эпителии?

Если бы диссеминация развивалась от клетки к клетке (per continuitatem), то, как показывает расчёт, линейная скорость процесса из точечного поражения не превышала бы 10 мкм в час, или 0,024 см в сутки. Для стремительного развития дизентерии это выглядит неестественно медленным.

Можно соответствующие расчёты продолжить и получить ещё более впечатляющие числа. Например, можно подсчитать, что для поражения из точечного микроочага 10 погонных см (примерно 1 колено сигмовидной кишки) потребовалось бы не менее 148 суток.

Но расчёты не имеют такой убедительности как микрофото рис.6.3, где клетка только в плоскости среза содержит несколько десятков шигелл без намёка на их переход в соседние клетки. Мы думаем, что такой переход в принципе вообще невозможен. Это «запрещённый» алгоритм. Ведь шигеллы не имеют органов движения и проникают в энтероциты пассивно. Они тем или иным способом вызывают с апикальной стороны энтероцита парадоксальную клеточную реакцию – пинофагоцитоз. Боковые поверхности энтероцитов, изобилующие десмосомами, к пинофагоцитозу едва ли способны. Поэтому дальнейшее проникновение шигелл в этом направлении невозможно.

Проведенные нами опыты и наблюдения показали, что появление шигелл вблизи эпителия сопровождается резким ослаблением силы сцепления эпителиоцитов с базальной мембраной. Поэтому эпителиоциты и целые микрофрагменты эпителия, могут «сбрасываться» в просвет кишечника. Оголённые боковые клеточные поверхности, с помощью десмосом смыкаются, восстанавливая целостность ткани. Этот эффект неоднократно наблюдался нами in vitro в суспензии энтероцитов, вновь собиравшихся в клеточные пласты уже через несколько минут после дезинтеграции эпителия.

Всё это заставляет нас полагать, что в распространении (диссеминации) патогенной популяции задействованы другие, на много более быстрые и эффективные механизмы, повторяющие успешные для возбудителя акты первичного заражения – адгезии и инвазии.

6.2. Динамика развития популяции шигелл в живой ткани.

Сокровенная сущность инфекционного процесса, по нашему мнению, заключена в динамике размножения возбудителей в тканях организма. Для её изучения потребовалось решить ряд непростых технических и методических задач. Их подробное изложение приведено в 3-ей главе. Напомним только, что кишечный препарат после адгезии шигелл в гипотермических условиях, нагревался до температуры +37 ^{0}С, нарезался на 5 частей, каждая из которых раздельно инкубировалась при гипербарии карбогеном не долее 4 часов. Пробы (отрезки) для посева (или ультраструктурного анализа) отбирались через 60, 120, 180 и 240 минут. Пробы для посева дезинтегрировались и в разведениях засевались на агаризованную среду. После суточной нормотермической инкубации в термостате производился подсчёт КОЕ и расчёт количества микроорганизмов на единицу площади слизистой по той же рабочей формуле, как и для расчёта адгезии (16).

Результаты использовались для измерения скорости размножения μ_{max} по формуле (9). Определение этой величины в тканях человека произведено нами впервые в мировой практике. Оно давало то преимущество, что для любого значения стартовой дозы можно было простым расчётом оценивать динамику дальнейшего роста популяции. Соответствующие итоговые результаты отражены во втором столбце таблицы 6.1

Полученные данные показали, что рост в такой естественной среде, как слизистая оболочка кишечника человека, кардинальным образом отличается от всех ранее известных и упомянутых нами типов культур на искусственных питательных средах (см. гл. 1).

Первое и основное: шигеллы в цитоплазме растут *без латентной (начальной стационарной) фазы* (см.табл.6.1. 8-я строка). В этом проявляется наивысшая степень приспособленности микробного вида к среде обитания, а также явная неадекватность для него обычных питательных сред, где его рост без латентной фазы не обходится. В химусе, который тоже является для возбудителя будто бы естественной средой, начальная стационарная фаза существует и длится целых 120 минут. Это даже больше чем в другой искусственной среде – мясопептонном бульоне.

Таблица 6.1
Кинетика роста Shigella Flexneri 2a в эпителии, в химусе и мясопептонном бульоне (МПБ)

t_{0-4} - время экспозиции, μ_{max} - логарифм. скорость σ - коэффициент отбора (селекции) g - время генерации	Кол-во выросших Шигелл (КОЕ) на мм^2 эпителия слизистой	Кол-во выросших шигелл (КОЕ) на 0.1 мл химуса	Рост в МПБ / Время экспозиции (мин.)	Рост в МПБ / Кол-во выросших шигелл (КОЕ) на 0.1 мл МПБ
1	2	3	4	5
1 $t_0 = 0$	0	15.2	0	-
2 $t_1 = 60'$ минут	9540 ± 1107	15.0	35	14
3 $t_2 = 120'$ минут	33467 ± 3820	15.3	105	17
4 $t_3 = 180'$ минут	91000 ± 23411	337,7	160	131
5 $t_4 = 240'$ минут	122000 ± 26163	-	240	365
6 μ_{max}	0,026	0,0168		0,023
7 σ	+ 0,0092	– 0,0092		– 0.003
8. Латентная (начальная стационарная) фаза	0	120минут	100минут	
9 g	27мин.43 сек	41 минута	30 минут	

Однако отличия на этом не заканчиваются. Было установлено также, что такая фундаментальная характеристика как скорость репродукции μ_{max} в эпителии (табл.6.1. 6-я строка) оказалась существенно выше, чем в химусе и бульоне (МПБ). Она составляла в эпителии - 0,026, в химусе - 0,016 и бульоне - 0,023. Это означает, что в эпителии шигеллы делятся каждые 27 минут, в химусе – каждые 40 минут, в бульоне – каждые 30

минут (табл.6.1, 9-я строка.). Таким образом, химус, в котором, казалось бы, возбудитель должен хорошо размножаться, на самом деле наименее приемлемая среда для развития шигелл Флекснера.

Замедление внутриклеточного роста между 180-й и 240-й минутой экспозиции (табл.6.1, 4-я – 5-я строка) свидетельствует о переходе в *максимальную стационарную фазу*, а численные значения содержания микробов - о достижении М-концентрации (N_{max}). В том, что это так, подтверждают и морфологические данные, показывающие очень высокую плотность расположения бактериальных тел в пораженных энтероцитах (рис. 6.3), соизмеримую со значениями М-концентрации.

6.3. Эволюционируют ли шигеллы Флекснера в сторону сапрофитизации?

Определение численного значения μ_{max} в человеческом организме позволяет решить микроэволюционную проблему флекснеровского микроба. Так, сравнение численных значений μ_{max} в живых тканях, химусе и мясопептонном бульоне даёт возможность вычислить основной эволюционный параметр - коэффициент селекции σ, определяющий селективные преимущества патогенного способа жизни популяции по сравнению с сапрофитическим способом. Для этого достаточно вычесть из величины скорости размножения шигелл в эпителиоцитах ($\mu_{max\,E}$) скорость размножения в химусе ($\mu_{max\,C}$), по соотношению: $\sigma = \mu_{max\,E} - \mu_{max\,C}$. Согласно данным таблицы:6.1 можем записать: $\sigma = 0.026 - 0{,}0168 = 0{,}0092$.

Полученная разность представляет собой численное значение коэффициента селекции. В строке 7-й таблицы 6.1. коэффициент селекции в эпителиоцитах человека число положительное, равное 0.0092. Следовательно, вектор отбора направлен на воспроизводство вида за счёт внутриклеточного паразитизма.

Эти два числа исключают любые спекуляции на тему о возможности сапрофитизаци шигеллы Флекснера 2а. Конеб чно, в лаборатории можно получить любую степень сапрофитизации, но для вида в естественных условиях это эволюционный тупик. Коэффициент селекции для роста в эпителиоцитах больше нуля, то есть имеет положительное значение. Одного этого достаточно, чтобы исключить все дальнейшие дискуссии о сапрофитизации шигелл Флекснера. У шигеллы Флекснера 2а, может снизиться вирулентность, но сапрофитом она никогда не станет, разве что прекратит своё существование.

6.4. Диссеминация, миграция и эмиссия микробных популяций в инфекционном процессе

После достижения М-концентрации в пробирке с бульоном, как известно, наступает стацинарная фаза, за которой следует фаза ускорения гибели. Однако, в живых тканях дальнейшая судьба популяции шигелл, складывается иначе. Популяция не начинает отмирать как в пробирке с бульоном. С ней происходят процессы, присущие почти всем биологическим видам, ведущим самостоятельный образ жизни во внешней среде. В дикой природе перенасыщенная популяция животных, истощив запасы территории своего обитания, мигрирует в другие зоны, где сохранились пищевые ресурсы. В периоды миграции популяции более подвержены опасностям, теряют часть особей, да и захват новой территории без жертв не обходится. Тем не менее, они выживают и в конечном итоге их численность возрастает.

В отличие от животных, микроорганизмы крайне ограничены в миграционных возможностях и могут вообще не иметь органов движения. Тем не менее, ни один микробный вид не может существовать без подобной миграции. Это подтверждается тем,

что внешняя среда обильно заселена убиквитарной микрофлорой разной видовой принадлежности. Микробной заселённости внешней среды содействуют 2 фактора: огромная скорость размножения и непрерывный круговорот веществ, структур и организмов на поверхности земной коры. Если бы этот круговорот внезапно остановился, царство микроорганизмов не прожило бы и недели несмотря на обилие пищевых ресурсов вокруг. В этом убеждает практика пересевов на плотных питательных средах. Каждая колония вырастает до определённых размеров и остаётся в месте инокуляции пока не погибнет.

Факторами круговорота микроорганизмов во внешней среде служит движение воздуха и контакт с другими, перемещающимися объектами, в том числе живыми. Воздушная среда всегда подвижна и несёт в себе такое количество взвешенных частичек с микробами, что достаточно на короткое время открыть чашку с питательной средой, чтобы после инкубации в термостате на ней выросло до десятка колоний.

Перенос микрофлоры посредством контакта с перемещающимися объектами может быть менее активен по частоте, но интенсивнее по дозе. Огромный вклад в распространение микрофлоры вносят постоянная миграция насекомых, птиц, земноводных и других животных, семян и остатков растений, ресуспендирование (возвратное взмучивание) мелких частиц в атмосфере, именуемое пылью. В гидросфере те же функции выполняют течения, водная флора и фауна. Совокупность этих факторов дополняется бытовой и хозяйственной деятельностью человека. Поэтому, миграция с факторами среды является таким же важным условием, биологическим законом жизни микробных популяций, как и необходимость в пищевых ресурсах.

В организме больного действуют те же общебиологические закономерности. Миграция возбудителей в больном организме может быть активной, если микробная клетка оснащена аппаратом движения (например, жгутики у сальмонелл) и пассивной, как у шигелл. Патогенный микроб может быть наделён ещё способностями к миграции за счёт проникновения в потоки внутренних сред организма – крови, лимфы, желчи, химуса и т.д. В большей или меньшей степени миграция заразного начала прослеживается при всех местных и общих инфекционных состояниях. Достаточно вспомнить клинику рожистых воспалений, флегмон, лимфангоитов, раневых инфекций, пневмоний, энтеритов, дизентерии, катаров верхних дыхательных путей, тифов, диссеминированного туберкулёза, бактериурию, бактериемию и септицемию, а также многочисленные осложнения других видов патологии.

Миграцию инфекционного начала в процессе болезни обычно именуют диссеминацией, с которой в клинике борются всеми доступными средствами, вплоть до хирургических. Однако, миграция патогенов, как биологическая закономерность, до сих пор не оказалась в центре внимания. Хотя странно представлять себе инфекционный процесс в организме без перемещений микроорганизмов. В неявной форме этому механизму уделял внимание Л.В.Громашевский, когда выдвинул положение о локализации возбудителя в организме. Ведь любая локализация немыслима без продвижения к ней.

Л.В. Громашевский обратил особое внимание на то, что биопатогенные микроорганизмы приспособлены не к одному, а к 2-м видам миграции - к условиям организма (локализация возбудителя) и к механизму передачи возбудителя (эпидемический процесс). Эта двойная приспособленность отражена во 2-м законе Громашевского, который мы приводим в авторской формулировке: «локализация возбудителя в организме и механизм передачи его от одного индивидуума к другому находятся в полном и обязательном соответствии между собой; они представляют собой взаимно обусловливающие друг друга явления, которые, закономерно сменяя друг друга, образуют непрерывную цепь, обеспечивающую сохранение вида возбудителя в

природе, а вместе с тем непрерывность эпидемического процесса при любой инфекционной болезни». Если бы соответствие локализации и механизма передачи не соблюдалось, многие инфекции прекратили бы своё существование.

Взаимозависимость между заражением, локализацией в организме и выведением возбудителя (т.е. началом механизма передачи) обеспечивается патогенетическими механизмами, которые в свою очередь зависят от особенностей места и характера репродукции популяции. Ключевым этапом этого процесса является выделение микроорганизмов с места их репродукции, которое было впервые изучено и описано нами в качестве обязательной фазы развития инфекции. Учитывая решающую роль процесса выделения возбудителей в инфекционном процессе, мы дали ему наименование «эмиссии возбудителей»

Определение. *Эмиссией называется биологически и патогенетически обусловленный этап развития популяции возбудителя, заключающийся в его закономерном выходе с места своего обитания в тканях организма.*

Эмиссия - не может быть случайным и спонтанным процессом. Возбудители должны выделяться из фокуса размножения на таком этапе и в такой форме, чтобы обеспечить дальнейшее развитие инфекции путём возникновения новых мест их произрастания, гарантирующих распространение процесса - диссеминацию. Изучение эмиссии шигелл, после их размножения в клетках слизистой оболочки кишечника, показало следующее.

Во-первых, внутриклеточное размножение шигелл вызывает ослабление связи эпителия с базальной мембраной. Это проявляется в том, что уже спустя 15 минут экспозиции слизистой оболочки в контакте с суспензией шигелл, эпителий начинает отслаиваться в поле центробежных сил, начиная с 800 об./мин., в то время как в отсутствии шигелл выдерживает до 1500 об/мин.

Во-вторых, после достижения внутриклеточной М-концентрации в отмывочной жидкости появляется *эмиссионный продукт* - множество фрагментов эпителия, в особенности верхушек ворсин и свободных микробных клеток. Во фрагментах эпителия обнаруживается большое количество внутриклеточных шигелл наряду с экстрацеллюлярными (внеклеточными) свободными микроорганизмами. В условиях нашего эксперимента соотношение микробных численностей в этих фракциях составляло 44% внутриклеточных и 56% внеклеточных.

6.5. Эмиссионный продукт.

Для характеристики *эмиссионного продукта* (внутриклеточной и внеклеточной фракции) предлагается 3 критерия.

1. *Коэффициент общей эмиссии* E_0 определяет степень высвобождения возбудителя из ткани. Рассчитывается на основании экспериментальных данных, как отношение общего числа выделившихся возбудителей n_0 к общему количеству, которое содержалось в ткани N_{max}:

$$E_0 = n_0 / N_{max} \qquad (20)$$

По нашим данным в кишечных препаратах E_0 = **0,9.** Это значит, что до 90%, выросшей в ткани популяции шигелл, выделяется в просвет кишечника, а остаётся всего около 10%.

2. *Коэффициент свободноклеточной эмиссии* E_1 рассчитывается по опытным данным, как отношение числа выделившихся свободных бактериальных клеток n_1 к общему выделившемуся количеству $E_0 N_{max}$.:

$$E_1 = n_1 / E_0 N_{max} \qquad (21)$$

В наших исследованиях E_l составлял **0,56.** Это значит, что до 56% выделившихся шигелл находились в свободно-клеточном состоянии и не были связаны с клеточным детритом.

3. *Коэффициент агрегированной эмиссии* возбудителей E_a рассчитывается по формуле:

$$E_a = 1 - E_l \qquad (22)$$

По нашим данным E_a составлял **0,44.** То есть до 44% выделившейся массы шигелл были агрегированы (связаны) с клеточными и тканевыми структурами слущенного эпителия.

Рис.6 .4.Эмиссия возбудителя дизентерии Флекснера с эпителиальными элементами верхушками ворсин

Уже в литературе 70-х годов можно найти данные, подтверждающие существование свободноклеточной и агрегированной формы эмиссии. В фундаментальных работах В.И.Покровского и Н.Б.Шалыгиной [16, 17] приводятся результаты прямых исследований пунктатов слизистой оболочки и проб химуса больных дизентерией Флекснера. Авторы показали, что в эпителии слизистой внутриклеточное расположение шигелл не выявляется даже в воспалительных очагах, зато в химусе можно найти много отторгнутых эпителиальных фрагментов с внутриклеточно и внеклеточно расположенными возбудителями. Эти данные якобы противоречили установившемуся в то время мнению о том, что шигелла Флекснера – внутриклеточный паразит. На самом деле, противоречие было кажущимся.

Если учесть обнаруженное нами ослабляющее действие шигелл на связь эпителия с базальной мембраной, можно предположить, что, вскоре после пинофагоцитоза, слизистая оболочка «сбрасывает» энтероциты или целые участки эпителия. Предположительно, сигналом к сбросу является лизис пинофагоцитозной вакуоли и деление микробной клетки. По времени это должно происходить как минимум через время генерации, т.е. не ранее 27 минут. В разгаре процесса, когда в просвете появляется много слущенных элементов с размножившимися шигеллами, токсическое воздействие на эпителий возрастает, «сбрасывание» (или слущивание) может происходить ещё раньше - на стадии адгезии. И тогда, как и наблюдала Н.Б.Шалыгина, в эпителии внутриклеточные шигеллы не будут обнаруживаться.

Таким образом, первичное поражение эпителия слизистой кишечника имеет ряд специфических этапов. Всё начинается с прочной адгезии, затем следует первая своеобразная реакция эпителия – пинофагоцитоз, и сразу же наступает стремительная «атака» возбудителя – лизис вакуоли и внутриклеточное, без латентной фазы (!), интенсивное размножение шигелл. Это вызывает стереотипную оборонительную

реакцию ткани – возвратное сбрасывание пораженных клеток в просвет кишки, то есть эмиссию. После чего снова должен наступить процесс адгезии, но уже для эмиссионного продукта. Круг замкнулся. Этот круг не что иное как, повторяющийся популяционный цикл.

6.6. Тканевой популяционный цикл и его парадоксальное следствие.

Итак, круг замыкается. Возбудитель вновь попадает в просвет кишечника, но с 2-мя важными преимуществами – 1) в приумноженном количестве и 2) в виде нафаршированных микробами «сброшенных» эпителиальных элементов. Их особое значение будет показано в следующей главе. Но то, что произошло с возбудителем, на языке теории популяций, должно именоваться популяционным циклом, который по предложению В.Г.Петровской назван «тканевым». Его отображает график изменения численности микробной популяции по этапам: адгезия, - пинофагоцитоз - внутриклеточное размножение – эмиссия (рис. 6.5).

Определение. *Локальное инфицирование ткани организма, начинающееся с адгезии, переходящей в размножение и завершающееся эмиссией возбудителя, составляет «тканевой популяционный цикл».*

Тканевой популяционный цикл имеет характерную остроконечную форму, присущую многим мигрирующим популяциям в дикой природе. Ниспадающий отрезок графика, между точкой «пристеночная доза» и «адгезионная доза» - это формирование стартовой позиции популяции возбудителя перед проникновением в эпителиоциты. На этом этапе численность, вовлекаемых в цикл микробов, стремительно падает. Остаток сохраняется в пристеночном слое. Но он уже аутсайдер. Он истощён. Дальнейшего участия в процессе принять не сможет. На поверхности эпителиоцитов формируется адгезионная доза, все возбудители которой проникают в клетки и начинают бурно размножаться, так как они попадают в биологически адекватную среду. Достигнув М-концентрации, популяция переходит к заключительной фазе цикла – эмиссии. Её дальнейшая судьба зависит от того *достаточен ли будет эмиссионный продукт для зачатия нового тканевого популяционного цикла* или нет. А это зависит от величины адгезионной дозы содержащейся в эмиссионном продукте.

Рис. 6.5. Тканевой популяционный цикл S. Flexneri 2a в слизистой оболочке кишечника человека

6.7. Популяционный детерминал и парадокс его инициации.

Чтобы проверить возможность инициации нового цикла, приходится прибегнуть к расчётам. Если принять, что адгезионная доза - N_0, а размножение заканчивается на

величине N_{max}, то кратность возрастания численности микробов может быть выражена «популяционным детерминалом» $\tau = 1 + e^{-m(t-\theta)}$, по формуле:

$$N_{max} = \tau\, N_0 \qquad (23)$$

В наших исследованиях $\tau = 36$. Это следует понимать так, что в нашей аранжировке опыта численность шигелл за цикл возрастала в 36 раз. Оценим, хватит ли этого для повторения инвазии эпителия. Величина эмиссионного продукта полученного от самой высокой пристеночной концентрации P=21.544.300 мко/$см^2$ ($K=10^{11}$) составляет 12.200.000 шигелл на квадратный см (см. табл.4.1 нижняя строка). В кишечнике взрослого человека на 1 $см^2$ поверхности слизистой оболочки приходится минимум 2 $см^3$ свободного пространства просвета кишечной трубки. Благодаря перистальтике, распределившись в нём, шигеллы могли бы образовать концентрацию порядка $K=6{,}1\cdot10^6$ мко/мл. Но, с учётом коэффициентов эмиссии, свободноклеточная фракция может образовать концентрацию $K=3{,}06\cdot10^6$ мко/мл, а агрегированная и того меньше – $K=2{,}68\cdot10^6$ мко/мл. Сравнив эти данные с табл. 4.1 и 4.3 не трудно убедиться, что все приведенные значения эмиссионного продукта почти в 100 раз меньше величины стартового значения эффективной адгезии.

Мы пришли к парадоксу. *Оказалось, что самый интенсивный тканевой популяционный цикл не может обеспечить возникновение следующего, то есть не способен продолжить развитие дизентерийной инфекции.*

Парадоксальность ситуации усугубляется тем, что диссеминация дизентерийного процесса per continuitatem невозможна, так как слишком медленна (стр..26). К тому же, в таблице 6.1 приведено значение скорости репродукции шигелл в химусе, величина которого настолько мала, а период генерации настолько велик, что считать, будто дизентерийный процесс может поддерживаться размножением шигелл в химусе, тем более невозможен.

Разрешению этого парадокса посвящается следующая глава.

Резюме

Для изучения роста микробов разработаны специальные устройства и методы, основанные на использовании изолированных фрагментов живых тканей человека. Они позволили установить, что размножение шигелл в эпителиоцитах протекает без латентного периода, а скорость размножения больше чем в кишечном химусе и мясопептонном бульоне. Экспериментально обосновано, что рост возбудителя цикличен и состоит из этапов: адгезии, проникновения во внутреннюю среду организма (в т.ч. клетку), внутриклеточного размножения и «эмиссии» - выхода возбудителя с места своей репродукции для захвата нового участка ткани. В совокупности это составляет «тканевой популяционный цикл». Однако численный анализ показал, что ни самый интенсивный популяционный цикл, ни размножение шигелл в химусе, ни распространение возбудителя через боковые стенки энтероцитов не способно обусловить продолжение и развитие инфекции. Разрешению этого парадокса посвящена следующая глава.

Наука заключается в такой группировке фактов, которая позволяет выводить на их основании общие законы или заключения.
Ч. Дарвин

Глава 7

ТЕОРИЯ ИНФЕКТОНОВ

Неспособность исходного тканевого популяционного цикла инициировать возникновение следующего может быть объяснена тем, что при расчёте не учитывалась реальная структура эмиссионного продукта. Как было показано выше, в нём значительную долю занимают отторгнутые инфицированные элементы эпителия. Насколько они способны вызвать очередные поражения эпителия, должен был ответить прямой эксперимент. Он показал, что эмиссионный продукт, состоящий из отторгнутых эпителиальных фрагментов, содержащий агрегированные с ним шигеллы («агрегированная эмиссия») оказался именно тем, что обеспечивает повторение цикла и дальнейшее развитие процесса. В этом убеждает сакраментальный результат тщательно подготовленного и проконтролированного эксперимента, при котором фрагмент кишки заражался суспензией ворсинок, инвазированых шигеллами (агрегированная эмиссия), и параллельно другой фрагмент суспензией шигелл точно такой же концентрации (свободноклетоочная эмиссия). Оба кишечных препарата экспонировались 3 часа в гипербарном культиваторе, тщательно отмывались, дезинтегрировались и засевались на агаризованную среду. Результат показал, что агрегированный эмиссионный продукт (ворсинки) способствовал инвазии эпителия в среднем почти на три порядка больше чем свободноклеточная суспензия (см табл. 7.1).

Таблица 7.1.
Суммарные результаты по 13 опытам заражения шигеллами Флекснера слизистой оболочки кишечника человека агрегированной эмиссией и равными дозами и концентрациями свободноклеточных суспензий.

Характеристика эмиссионного продукта	Микробная концентрация (К) (КОЕ / мл)	Выросло шигелл после заражения одинаковых отрезков кишечника человека (КОЕ)	Кратность превышения агрегированной эмиссии по отношению к свободно-клеточной суспензии
Свободно-клеточная суспензия шигелл (контроль)	$3{,}57 \cdot 10^{6}$	169	1
Суспензия шигелл агрегированных с клеточно-тканевыми остатками (детритом) (опыт)	$3{,}57 \cdot 10^{6}$	124 915	738.5

Разница в 738 (почти в 1000) раз свидетельствует о том, что эксперимент вскрыл фундаментальную закономерность. При этом ничтожный рост в контроле (169 КОЕ на

13 исследований), обусловленный свободно-клеточной суспензией концентрацией $3{,}57 \cdot 10^{6}$, не должен вызывать удивления. Ведь согласно данным табл. 4.3 и 5.1 коэффициент адгезии для миллионных значений объёмной концентрации K составляет всего 0,014. Несложный перерасчёт по формулам (17) показывает, что уровень адгезии должен был составлять величину 3,27 $мко/мм^2$. Это количество, за 180 минут роста, не могло вырасти до величины большей, чем было получено в эксперименте (169 КОЕ).

Те же закономерности могут объяснить, почему заражение слущенными фрагментами ворсин даёт такой разительный эффект. Очевидно причина в том, что на микроскопической площадке слущенного фрагмента концентрируется достаточно большое число шигелл, которое приводит к массивной локальной контаминации слизистой. Технически подсчитать, сколько шигелл на поверхности слущенного фрагмента ворсины крайне сложно. А сделать такую оценку для нескольких тысяч таких фрагментов агрегированной эмиссии тем более. Ещё менее доступна стандартизация такого опыта с целью получения точных подсчётов, так как структура эмиссионного продукта зависит от жизнеспособности эпителиального фрагмента, возраста и состояния донора, множества случайных факторов и даже формы отрезка кишки.

Тем не менее, нам удалось получить ориентировочные средние оценки содержания микробов на 1 фрагмент ворсинки. Результаты приведены в таблице 7.2.

Таблица 7.2
Среднее количество шигелл на 1 слущенный фрагмент (ворсинку)

Опыт №	1	2	3	4	5	6	7	8
Концентрация Ворсин (тысяч на мл)	5,5	6,3	3,2	5,5	5,4	6,2	4,7	3,9
Концентрация Шигелл (млн. на мл)	7,4	6,3	9,2	2,5	0,9	3,1	2,9	6,4
Содержание шигелл на 1 фрагмент ворсинки	1345	1000	2880	4550	167	500	617	1641

Как мы показали ранее (см. гл. 3), решающее значение в адгезии имеет поверхностная концентрация. Чтобы оценить её значение был проведен специальный эксперимент по фракционированию совокупного эмиссионного продукта с целью получения относительно изоморфной фракции слущенных фрагментов ворсин (таблица 7.3).

Таблица 7.3.
Средние размеры фрагментов слущенных ворсин

Число исследований	Длина (мм)	Ширина (мм)	Площадь прилипания ($мм^2$)
16	$0{,}169 \pm 0{,}018$	0.073 ± 0.0074	$0{,}0123 \pm 0.00104$

Расчёт поверхностной концентрации в плоскости прилипания единичного фрагмента показывает, что она составляет величину $P = 129065$ $мко/мм^2$, что соответствует заражению слизистой оболочки суспензией микробов концентрацией $K = 1{,}6 \cdot 10^{10}$. Обращает на себя внимание, что величина K существенно превосходит М-концентрацию в пробирке с бульоном.

В другой серии опытов мы попытались оценить величину P, не прибегая к фракционированию и оценивая микробную нагрузку на фрагмент в одном и том же

материале кишечного препарата. Результаты приведены в таблице 7.4. Полученное значение $P = 21101$ *мко/мм* ^{2} равнозначно использованию микробной суспензии концентрацией $K = 0{,}306 \cdot 10^{10}$. Это хотя и меньше чем данные табл. 7.2 и 7.3, однако также существенно больше М-концентрации - естественного предела роста популяции шигелл в пробирке с бульоном.

7.1. Фундаментальное дополнение к теории инфекционной дозы

Таким образом эмиссионный продукт тканевого популяционного цикла шигелл, состоящий из дискретных образований – фрагментов слущенных ворсинок - обнаружил огромную инфицирующую способность, превосходящую лабораторную микробную суспензию почти в 1000 раз. Примечательно, что превосходство оказалось обусловленным характеристиками адгезии, прежде всего – поверхностной концентрацией возбудителей и площадью контаминации.

Эти данные в корне меняют понимание инфекционной дозы. Если до сих пор принималось, что доза – только число микробов, способное вызвать болезнь, то в свете приведенных данных становится понятным, что этого совсем недостаточно. Приведенные данные показали, что доза это далеко не просто микробное число. Это *организованная популяционная структура*, которая должна иметь эффективную поверхностную концентрацию – *P*, на такой площадке – *S*, чтобы обеспечить инициацию тканевого популяционного цикла.

Таблица 7.4

Распределение микробной численности на слущенный элемент (ворсинка или пласт) в пробах эмиссионного продукта слизистой оболочки плодов человека

Средняя длина элементов (мм)	Средняя ширина элементов (мм)	Средняя площадь контаминации элемента S (мм ^{2})	Распределение частот элементов разной величины: %	Число микробов на элемент (мко/элемент)	Суммарное число микробов в каждой фракции элементов (мко)
0,168	0,073	0,0123	85	259,54	9862
0,418	0,038	0,014.	11	295,4	32
1,62	2,4	3,84	2	81027,8	81027
1,3	9,7	1,26	2	26587,2	26587
Средняя поверхностная концентрация на 1 элемент (*мко / мм*^{2})					***21101***

Обе характеристики (P и S) не могут быть реализованы, если заразный материал не *сгруппирован* таким способом, чтобы в плоскости соприкосновения со слизистой S, число и расположение микроорганизмов отвечало эффективному значению *P*. . Это возможно лишь в том случае если заражающий материал – *частица* либо квазичастица (псевдочастица) типа случайного микробного скопления, возникающего вследствие флуктуаций, сложности рельефа слизистой оболочки и разных других привходящих причин.

В науке принято частицы называть добавлением к корню слова окончания «- он». Поэтому частица или квазичастица, способная заразить (инфицировать) впервые названа нами «***инфектоном***».

Определение. *Инфектоном называется дискретный элемент эмиссионного продукта или иного заразного материала, образующий в плоскости контакта с тканями*

организма поверхностную концентрацию, достаточную для развития тканевого популяционного цикла возбудителя.

Из определения следует, что заразный материал может иметь какую угодно численность возбудителей, но в заражении смогут принять только те, часто совсем немногие, которые сгруппированы в эффективные значения P на поверхности слизистой оболочки площадью S, то есть являются инфектонами. Остальные, сколько бы они не содержали возбудителей, сколько бы не было их самих, прямого инфицирующего эффекта иметь не будут. Как сказал соавтор этих исследований В.М. Бондаренко - они составят «инертную массу» В этом заключается сущность и закономерность инфектонной организации заражающих субстанций естественного и искусственного происхождения. Поэтому дозой инфекции является число инфектонов [18,8,9,19,30,31].

Категория инфектона является неумолимым следствием закономерностей адгезии. Когда было установлено, что P многократно превосходит C_{max}, стало очевидным, что заражение всей слизистой, путём создания на всей её поверхности эффективной концентрации требует неестественно огромного количества микроорганизмов. Отсюда следовало, что заражение должно иметь точечный характер. Удельная доза D давала самое минимальное значение дозы на уровне адгезии, не учитывающее размножения возбудителя. Величину D можно трактовать как минимальный «адгезионный инфектон» при одном условии – если будет учтена минимальная «площадь» слизистой ΔS, которую он контаминирует (см. табл. 4.3, 6-й столбец). Размер такой «площади» без труда может быть рассчитан по формуле (19) и (20). Весь дальнейший путь процесса заражения сводился к тому, чтобы учесть наращивание «адгезионного инфектона» до способности инициировать тканевой популяционный цикл и стать уже подлинным зачинателем инфекционого процесса. Таким образом, к понятию инфектона можно было прийти с помощью карандаша и бумаги, руководствуясь только закономерностями адгезии.

Однако, если доза это число инфектонов, то как быть с общепринятым представлением и измерением ID_{50}? Выше мы уже обсуждали этот вопрос и остановились на том, что ID_{50} - статистическая доза, оценивающая преимущественно вирулентность возбудителя. Доза в «инфектонном» исчислении, при всей сложности её измерения, является подлинной заражающей дозой и любые научные построения, не учитывающие этот факт, нами просто не могут рассматриваться.

Инфектонная структура заразных материалов позволяет корректно объяснить многие эпидемиологические факты и наблюдения. Например, почему при потреблении инфицированной пищи заражаются не все, а только часть из них. Объясняется это не только тем, что микробы неравномерно инфицировали продукт потребления, но и тем, что формирование инфектонов ещё более подвержено фактору случайности, поэтому кому-то повезло больше, а кому-то меньше. Точно также при водных вспышках кишечных инфекций среднее содержание возбудителей в воде может быть как угодно малым, а случаи заражения всё равно будут происходить, иногда даже в возрастающих количествах. Причина в том, что инфектоны, по сравнению с микробным числом, достаточно малочисленные формирования, поражающие по принципу случайной выборки, а не по уровню Коли-титра. При капельных инфекциях заражающий эффект имеют не все частицы экспираторного аэрозоля и не их сумма, а только те, что несут достаточное для преодоления барьерной функции слизистой число возбудителей. Это усиливает действие фактора случайности. Поэтому развитие вспышки респираторных инфекций в коллективах идёт прерывисто, рывками и внешне выглядит нерегулярно.

Благодаря инфектонам в естественных условиях заражение незаметно, так как осуществляется ничтожными количествами возбудителей. В общепринятых экспериментах для получения эффекта заражения используют неагрегированные суспензии микроорганизмов в больших концентрациях. Это приводит к получению

неестественно больших значений инфекционных доз ничего общего не имеющих с реальными дозами. Если бы в естественных условиях передача инфекции осуществлялась такими дозами, многих инфекций вообще не было бы. Впрочем, может и хозяев тоже.

Однако самое важное следствие состоит в том, что первичный инокулят, обусловленный единичным инфектоном, завершившись агрегированной эмиссией, возбуждает в организме цепочку следующих циклов. Такая цепь опосредованных инфектонами тканевых популяционных циклов формирует ***инфекционный процесс.***

Резюме.

Раздельное испытание двух фракций эмиссии, состоящей из свободных бактериальных клеток и таких, которые связаны со слущенными тканевыми и клеточными элементами показало, что первые вообще не способны инициировать повторное заражение слизистой оболочки, а вторые, в этой способности, превосходят их более чем в 700 раз. Анализ показал, что такие резкие отличия закладываются ещё при адгезии возбудителей, что рассматривалось нами в предыдущих главах. Из них вытекает, что любой заразный материал может инициировать очередной тканевой популяционный цикл лишь в том случае, когда возбудители организованы в микроскопические скопления (частицы, квази- или псевдочастицы). Частицы способные к инициированию тканевых популяционных циклов названы «инфектонами». Заразный материал может содержать любое количество возбудителей, но если в нём нет «инфектонов» - к заражению он не способен.

Всякой истине суждено одно мгновение торжества
между бесконечностью, когда её считают неверной
и бесконечностью, когда её считают тривиальной.
А.Пуанкаре

Глава 8

ДИССЕМИНАЦИЯ ТКАНЕВЫХ ПОПУЛЯЦИОННЫХ ЦИКЛОВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИИ

Благодаря тому, что опытным путём могут быть определены параметры адгезии, репродукции и эмиссии возбудителя, развитие последовательной цепи тканевых популяционных циклов становится доступным численному моделированию. Принцип такого моделирования состоит в том, что задавшись начальной дозой B_1, мы рассчитываем начало тканевого популяционного цикла, ход его развития и окончательный результат – величину эмиссионного продукта – B_2. Далее полученную величину принимаем за дозу, обусловливающую следующий, второй тканевой цикл, который завершается выделением дозы B_3. И так поступаем дальше.

Соответственно, неразветвлённая цепь тканевых популяционных циклов может быть записана как:

$$B_1 \rightarrow B_2 \rightarrow B_3 \rightarrow \ldots \rightarrow B_n$$

Под дозой, в данном случае, мы подразумеваем, эффективную численность микроорганизмов пристеночного слоя на площади слизистой оболочки S с поверхностной концентрацией $P_{эф}$, то есть:

$$B = P_{эф}\, S \qquad (24)$$

Согласно (12) и (17) после адгезии число микроорганизмов уменьшится, что можно установить, воспользовавшись соотношением:

$$N_1 = u\, P_{эф}\, S \qquad (25)$$

Это число после внутриклеточного размножения возрастёт до М-концентрации, то есть до N_{max}, которое, с учётом популяционного детерминала (23) составит:

$$N_{max} = \tau\, N_1 \qquad (26)$$

Популяционный детерминал в наших исследованиях был численно равен **36.** Используем это значение как частный случай. Теперь остаётся ввести коэффициент общей эмиссии E_0 (равный 0,9) и коэффициент агрегированной эмиссии E_a (равный 0,44). Вводить в расчёт коэффициент свободноклеточной эмиссии нет необходимости, так как в предыдущей главе мы показали, её неэффективность. Расчётная формула с учётом (27) примет вид:

$$N_{max} = N_1\, \tau\, E_0\, E_a \qquad (27)$$

Для исчислений мы пользовались экспериментальными и расчётными данными, сведенными в таблицах 4.1, 4.3 и 6.1. Таблицы 4.1 и 4.3 позволяли давать численную оценку стартовых параметров тканевого популяционного цикла, а данные таблицы 6.1 – динамику размножения и его продуктивность. Формулы 26 – 28 позволяли численно оценивать эмиссионный продукт.

На этой основе были рассчитаны цепочки популяционных циклов в зависимости от заражающих доз. Полученные результаты отражает таблица.8.1. Она показывает, что концентрации уровня меньше 10^9 мко/мл формируют угасающий процесс самопроизводства циклов. Таким образом, если заражение обусловлено концентрациями 10^9 мок/мл и меньше, возникающий инфекционный процесс самопроизвольно прекращается. Это соответствует субклиническим и абортивным формам течения дизентерии в том числе - краткосрочному носительству.

Было найдено и просчитано «переломное» значение концентрации заражающей дозы, составившее - $9{,}4 \cdot 10^9$мко/мл. При такой концентрации самопроизвоство циклов не угасает, но и не прогрессирует, что означает переход процесса в персистентную форму. Следовательно, кроме известных форм персистенции, обусловленных особыми свойствами микробных клеток и вирусов, может существовать ещё «динамическая» персистенция, обусловленная величиной и концентрацией заражающей дозы.

По-видимому, это не такой уже эксклюзивный вид персистенции. Ведь только при застройке вирусной ДНК в хромосомы возбудитель сохраняется в них, не размножаясь как обычно. Бактериальные клетки в теле хозяина могут длительно сохраняться в гипобиотическом состоянии лишь в случаях, когда они заключены в гранулёмы, инкапсулированы в соединительнотканные или петрифицированные структуры. Но когда они находятся в паренхиматозных органах, эпителии, лимфоидной и кровеносной системе, им необходимо непрерывно размножаться, чтобы иммунные силы организма не успевали их уничтожать или элиминировать. При этом персистенция вынужденно приобретает форму динамического равновесия, при котором эмиссия достаточна, чтобы не скатиться в абортивное течение, но её не хватает для перехода к прогрессирующей

динамике. Возникает вяло текущая инфекция, которую можно было бы назвать «динамической персистенцией»

Таблица 8.1.
Самопроизводство тканевых популяционных циклов в зависимости от заражающей дозы

Объёмная концентрация К ($мко/см^3$)	циклы в цепочке по порядку номеров	Уровень адгезии C_{max} ($мко/мм^2$)	N_{max} по формуле (27) ($мко/мм^2$)	Характеристика цепного процесса развития циклов
1	2	3	4	5
$10^2 - 10^5$	0	0	0	Заражение невозможно
10^6	1 2	2,3 0	32,78 0	Цикл неспособный к Продолжению
10^7	1 2 3	7,5 1,75 0	106,9 24,9 0	Угасающая цепь Циклов
10^8	1 2 3 4	66 24,5 6,9 0	940 349 98,2 0	Угасающая цепь Циклов
10^9	1 2 3 4 5 6 7	473 290 155 68 25 7 0	6743 4134 2209 969 356 99 0	Угасающая цепь Циклов
$9{,}45 \cdot 10^9$	1 2 3 и т.д	3140 3140 3140 и т. д	44700 44700 44700 и т.д.	Цепь самопроизводящхся циклов типа динамической персистенции
10^{10}	1 2 3 4 5 6 7	3360 3700 4100 4700 5700 7100 8860	47900 52747 58449 67003 81259 101217 126308	Цепь самопроизводящихся прогрессирующих циклов, достигающих предельного уровня
10^{11}	1 2 3 4 5 6 7	8860 8860 8860 8860 8860 8860 8860	126308 126308 126308 126308 126308 126308 126308	Цепь самопроизводящихся циклов предельного уровня

Если концентрация возбудителей в эмиссионном продукте начинает превосходить «переломный» уровень, то цепочки циклов приобретают прогрессирующую тенденцию. Это уже болезнь, потому что количество возбудителей становится всё больше и больше.

При концентрациях порядка 10^{11}мко/мл, в случае шигеллёза Флекснера, уровень адгезии ниже и устанавливается на уровне 10^{10}. Это связано с тем, что на поверхности слизистой имеется ограниченное число сайтов адгезии (см. гл.4). То есть начальный популяционный цикл должен развиваться так, как если бы концентрация дозы составляла меньшую величину -10^{10}мко/мл. Необходимость существования такого порога можно усмотреть ещё в данных табл..5.1. Они показывают, что коэффициенты адгезии с ростом концентраций некоторых микробных видов, достигнув максимума, далее уменьшаются.

Результаты численного моделирования развития цепочек тканевых популяционных циклов показывают, что динамика их развития является функцией дозы. Отсюда следует, что и тяжесть инфекции также является функцией заражающей дозы.

Поскольку в клинической практике заражающую дозу практически никогда установить нельзя, тяжесть инфекции всегда связывается с уровнем иммунной защиты организма. При этом не учитывается то, что снижение защиты равносильно увеличению дозы. В самом деле, если показатель невосприимчивости $u = C_{max} / P$, то удельная доза $D = 1 / u = P / C_{max}$. Последнее соотношение сохраняет значение дозы, если знаменатель и числитель уменьшать или увеличивать в одинаковое число раз. То есть для данного организма соотношение между дозой и защитными функциями организма индивидуальны. В этом смысле репродукция популяции возбудителя всегда является функцией дозы независимо от уровня иммунной защиты. Такова первая закономерность развития макропопуляции возбудителя в организме. Она не выходит за пределы общебиологических основ теории популяций.

Вторая важная закономерность имеет особое значение и особый смысл. Она состоит в том, что в зависимости от величины дозы возможны 4 уровня репродукции популяции. Первый – абортивный, определяемый дозами, меньшими, чем дозы, обусловливающие персистентную репродукцию. Второй уровень – персистентный, когда сохраняется относительное равновесие между абортивным и прогрессивным развитием цепей популяционных циклов. Третий - прогрессивный, при котором эмиссионные дозы возрастают от цикла к циклу, проявляясь в виде болезни.

Особенно примечателен предельный четвёртый уровень, при котором цепной процесс теряет прогрессирующе развитие, из-за того, что исчерпан ресурс сайтов адгезии эпителия. Четвёртый уровень в клинической интерпретации может рассматривать как заболевание в самой тяжёлой форме. Но для динамики развития популяции он существенен своей другой стороной. Он показывает, что каждый уровень репродукции воспроизводится присущей ему величиной эмиссионного продукта. То есть доза имеет характер только пускового механизма. И если первый цикл воспроизведёт максимальный эмиссионный продукт, процесс сразу, минуя все промежуточные уровни – абортивный, персистентный и прогрессирующий, – пойдёт с репродукцией максимальной эмиссии.

Обе закономерности нужно рассматривать как развитие инфекции в идеальных, а значит, искусственных условиях, преднамеренно выбранных лишь для того чтобы выявить кардинальные закономерности процесса. Поскольку эта цель осуществлена, посмотрим, что может происходить в реальных условиях развития процесса в организме.

Начнём с того, что описанные закономерности могут происходить не в таких «простых» отношениях как при шигеллёзе Флекснера, при котором в процесс

вовлекается только эпителий. Например, при сальмонеллёзе, когда возбудитель проникает в подслизистую, а затем диссеминирует через лимфатическую и венозную систему кишки, брыжейки и далее в системы организма. Процесс сможет идти по-другому, например, при дифтерии миндалин, когда возбудитель оказывается в криптах, не без помощи лимфоидных элементов. Во всех приведенных и многих других патогенетических вариантах возбудитель остаётся паразитом, биологический смысл жизни которого – захватив любой организменный ареал, начать размножаться. Размножившись, он должен столкнуться с исчерпанием ресурсов, то есть достижением N_{max}. И после этого он должен уйти в «поисках лучшей жизни». Как это реализуется при других инфекциях у других биопатогенных возбудителей пока не изучено. Но если существуют возбудители инфекций, то цепочки тканевых популяционных циклов являются биологическим механизмом их выживания.

Существует ещё один важный вариант развития циклов – разветвлённый цепной процесс. Разветвлённые цепные процессы были исследованы Н.Семёновым и С.Хиншельвудом (Ноб. премия 1956 г.) и с успехом применены нами в моделировании и прогнозировании гриппозных эпидемий (совместно с Г.Шайхетом, М.Товбиным и Е.Ройтманом). Ветвление линейной цепочки может возникать за счёт дробления эмиссионного продукта, что приводит к возникновению сразу 2-х и более вторичных циклов. При этом описанные две закономерности сохраняют своё действие. Разветвление цепей может приводить ускорению развития инфекционной болезни в ещё большей степени, чем рассмотренная нами линейная динамика.

Резюме

Установление факта существования ранее неизвестной формы воспроизводства возбудителя в тканях человеческого организма - тканевого популяционного цикла - позволило представить развитие популяции возбудителя в инфекционном процессе как последовательной цепи таких циклов. На модели неразветвлённых цепей было установлено, что малые дозы вызывают только абортивную цепь развития, средние – персистентную, а большие – прогрессивную тенденцию развития. Клинически это соответствует абортивному, хроническому и острому развитию инфекционного процесса и его зависимости от дозы. В реальных условиях инфекционного процесса неразветвлённые цепи сочетаются с разветвлениями, усугубляющими течение инфекции.

Науки только выигрывают,
если заимствуют друг у друга
методы и факты
Луи Пастер

Глава 9

ГЕНЕЗ И РАЗВИТИЕ МАКРОПОПУЛЯЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ В ОРГАНИЗМЕ В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИБИОТИКОВ И АНТИМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ ИММУНИТЕТА

Возникновение и развитие популяции возбудителя в организме, (классифицированной нами как «макропопуляция») было показано в предыдущих главах. В этой главе нам предстоит показать сочетание этого процесса с лечением

антибиотиками, возникновением резистентности, и выздоровлением. Особенность этой задачи состоит в том, что ни развитие макропопуляции, ни действие на неё антибиотикотерапии, ни действие на неё иммунного ответа пока не доступны прямому и лабораторно-аналитическому наблюдению. Врач у постели больного вынужден довольствоваться скудными, даже по современным меркам, данными инструментальных и лабораторных исследований, объединяя их своим клиническим чутьём, полагаясь на свои знания, и опыт. Чутьё у хорошего врача – хорошее. У плохого – плохое, если оно вообще есть. Так как накоплению врачебного опыта наряду с успехом случаются летальные исходы, наука должна стремиться к устранению человеческого фактора в лечебном процессе. Для ненаблюдаемых и трудно тестируемых процессов давно разработана методология, состоящая в разработке математических и компьютерных моделей, которые перепроверяются в эксперименте и постепенно совершенствуются, пока не дадут результат, совпадающий с практикой или экспериментом. Эффективность такого подхода доказывает наша цивилизация, которая от пуговицы до космических кораблей построена на основе именно такой методологии.

Попыток создать теоретическую модель развития инфекции и записать её в математической форме литература XX столетия содержит немало [N.Bailey[23], М.Ханин и Л.Элькин [24],О.В.Бароян и Л.Г.Рвачёв [25,26], Романовский Ю.М.,Н.В.Степанова, Д.С.Чернавский [27]. Ещё больше разработано в последнее время. Однако любая модель опирается на базу данных, почерпнутых в научной литературе или в клинико-лабораторных исследованиях. Эта база опирается на информацию о реакциях организма, в основном иммунной системы, данных об антибиотикоустойчивых (резистентных) возбудителях, и вынужденно оставляет в стороне несущий процесс – динамику роста и развития возбудителя в организме на всём протяжении инфекционной болезни. Причина проста – получить такую информацию трудно даже на экспериментальных животных, не говоря уже о человеке. А без этой информации построить адекватную модель невозможно.

Мы показали, что разрешить эту проблему можно, и в предыдущих главах изложили соответствующую методологию. Она опиралась на фундаментальные законы теории популяций и новый подход к экспериментальному моделированию. Это привело к формулированию новых теоретических положений, характеристических показателей и вскрытию ранее не известных алгоритмов роста возбудителей в живых тканях человеческого происхождения (адгезия, популяционный детерминал, эмиссия, тканевой популяционный цикл, инфектоны, и др.). Полученные результаты открыли ранее отсутствующие возможности математического описания развития популяции возбудителя в инфекционном процессе. Огромное значение имело для нас сотрудничество с Ю.В.Романовским и Н.В. Степановой (Московский госуниверситет), которые разрабатывали фундаментальную модель развития иммунитета в инфекционном процессе. Так как наш подход преследовал узко популяционный подход, наши направления, к большому сожалению, разошлись. Но принцип Ю.В.Романовского, минимальной математизации биологических процессов, остался с нами до конца. Непосредственно над созданием математической модели с нами трудились ещё 4 математика. Я с тёплым чувством благодарности упомяну И.Малинского, супругов Ждановых, и В.Гожий. Они профессионально отработали все приемлемые с их точки зрения версии модели. Но им мешали их чисто механико-математические подходы и то, что я сам не сумел корректно сформулировать и поставить перед ними задачу. Однако их труд не пропал даром. Он подготовил мой собственный подход к построению модели, уже после того как последняя, из этой замечательной четвёрки, ушла разводя руками: «этого невозможно сделать!».

Моё решение для математика слишком простое Оно ограничивается только показателями роста популяций и некоторыми неординарными «добавками». В «Прологе» я обещал, что буду объяснять логику математических уравнений и формул, своим собственным математически непрофессиональным языком. Наступил момент, когда обещание должно быть выполнено.

Итак, перед нами инфекционный больной, в теле которого размножается чувствительный к антибиотику штамм возбудителя. В первом приближении задача сводится к вопросу - какова будет численность этого штамма n_1 в любой момент времени t? Чтобы ответить на такой вопрос нужно знать скорость изменения численности этого штамма в каждой фазе инфекции – вначале, при разгаре заболевания, в стадии acme, при начале антимикробной терапии, и при развитии иммунного ответа. Понятно, что численность паразитирующей макропопуляции будет меняться, причём зеркалом изменений будет скорость популяционного роста. В любое мгновение этого процесса эта скорость будет слагаться из 1) максимальной в самом начале роста, 2) минус замедление, обусловленное достижением М-концентрации, 3) минус убыль от действия иммунного ответа, и 4) минус убыль от применения антибиотиков.

Нельзя объять необъятное, посему эту скорость сформулируем в самом общем виде для любого мгновения процесса. Такая «мгновенная» скорость записывается как бесконечно малое приращение микробного числа за бесконечно малое приращение времени. Используя значёк бесконечно малого приращения – d, искомое соотношение приобретёт вид: $\frac{dn_1}{dt} = ?$ Далее станем заменцать знак вопроса перечисленными четырьмя позициями по очереди, используя данные первой и последующих глав этой книги:

1) максимальная скорость размножения по первому закону Ферхюльста (1) с учётом (2) и (3) может быть записана как $\frac{n_1}{g_1}$.
2) замедление, обусловленное достижением М-концентрации (в дальнейших выкладках - $n_{\max}$) по второму закону Ферхюльста, с учётом того, что $r = \frac{n_{\max} - n_1}{n_{\max}}$; запишется как $\frac{n_1^2}{g_1 n_{\max}}$. По существу разность $\frac{n_1}{g_1} - \frac{n_1^2}{g_1 n_{\max}}$ является другой формой записи закона лимитированного роста Ферхюльста с заменой параметра логарифмической скорости μ на параметр времени генерации - g
3) Убыль от действия от иммунного ответа «включается» не сразу, а через определённый интервал времени, который «задаёт» функция Хевисайда $\vartheta(t - t_1)$. Собственно убыль математически является «ростом» популяции убитых иммунитетом клеток с условным временем генерации g_{im}: $\frac{\vartheta(t - t_1)\, n_1}{g_{im}}$
4) Убыль от действия антибиотиков также имеет своё время включения t_2, которое задаёт функция Хевисайда, и условное «время генерации» убитых микробов – g_a: $\frac{\vartheta(t - t_2)\, n_1}{g_a}$

Всю запись в целом представляет первое уравнение из системы (28). Второе уравнение воспроизводит рост популяции резистентных микроорганизмов n_2 при собственном времени генерации - g_2. Оно строилось на тех же посылках, что и первое. Но за начало

возникновения популяции резистентных отвечает первый член, являющийся произведением частоты мутаций резистентности ν на число чувствительных микроорганизмов n_1.

Завершает уравнение особый пятый член, сформулированный на основе закона действующих масс. Это наш чистый произвол. Он был вызван предположением, что популяция резистентных должна вступить в конкурентную борьбу за обитание в поражённой ткани с популяцией чувствительных. При проверочном моделировании этот пятый член не дал никаких ненормальных результатов, так что его запись и место в системе (29) с точки зрения динамики процесса оказалась уместной.

$$\left|\begin{array}{ll} \dfrac{dn_1}{dt} = \dfrac{n_1}{g_1} - \dfrac{n_1^2}{g_1 n_{\max}} - \dfrac{\vartheta(t-t_1)n_1}{g_m} - \dfrac{\vartheta(t-t_2)n_1}{g_n} & (1) \\ \dfrac{dn_2}{dt} = \nu n_1 + \dfrac{n_2}{g_2} - \dfrac{n_2^2}{g_2 n_{\max}} - \dfrac{\vartheta(t-t_1)n_2}{g_m} - \dfrac{n_1 n_2}{g_2 n_{\max}} & (2) \end{array}\right. \qquad (28)$$

Развитие макропопуяции возбудителя на основе системы уравнений (28) было проверено на компьютере. Компьютер дал численные и графические распечатки, на которых можно наблюдать воспроизведение всех фаз инфекционного процесса, возникновение резистентности, перехода процесса в хроническое течение (см. рис. 9.1 и 9.2). Компьютерная модель позволила «проиграть» разные варианты лечебного применения антибиотиков – раннее и позднее применение, эффективность комбинированного и попеременного лечения (рис.9.3). Моделировалась также эффективность иммунного ответа [30,35].

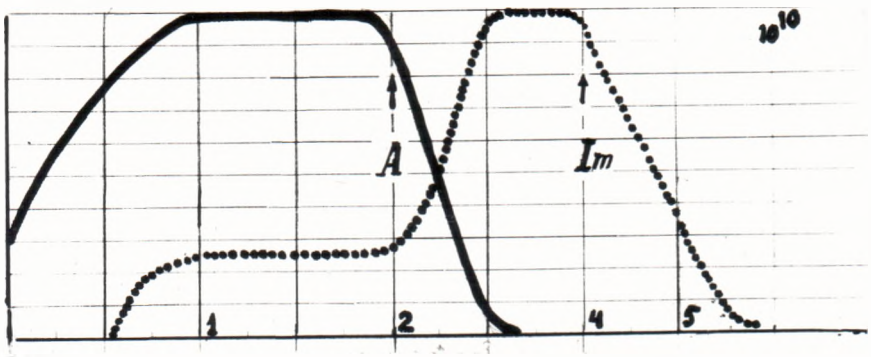

Рис.9.1. Развитие инфекционного процесса (макропопуляции возбудителя) обусловленного чувствительным к антибиотику штаммом (сплошная линия). По горизонтали – дни процесса. В зависимости от частоты возникновения резистентных мутантов или плазмидного фактора начинает развиваться субпопуляция резистентных микроорганизмов (пунктир). Под действием антибиотикотерапии макропопуляция чувствительного штамма гибнет, что способствует быстрому развитию резистентной субпопуляции. Однако иммунный ответ приводит её к уничтожению – организм выздоравливает. Стрелка с надписью А означает начало антибиотикотерапии. Стрелка с надписью Im означает начало антимикробной функции иммунных сил организма.

Полученный результат доказывает факт создания канонической модели развития популяции возбудителя в организме, воздействия на неё иммунитета и химиотерапии. «Канонический» от греч. kanon – норма, правило. «Каноническая» модель, уравнение или система, значит такая, которая определяет только основной принцип её структуры. В

том, что модель «каноническая» убеждает, корректность воспроизведения инфекции, исцеляющей функции иммунитета, возникновения и развития резистентности при разных режимах химиотерапии.

Недостаточность иммунного ответа, в отличие от процесса отражённого на рис. 9.1, приводит к тому, что резистентная субпопуляция не гибнет, а продолжает своё существование дальше. Процесс переходит в хроническую форму, обусловленную резистентными возбудителями (рис.9.2).

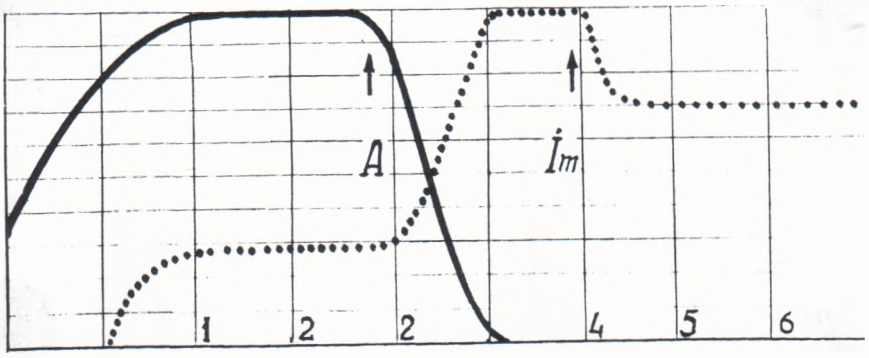

Рис.9.2. Случай развития инфекционного процесса (макропопуляции возбудителя) при недостаточном иммунном ответе. Обозначения те же, что и на рис.9.1.

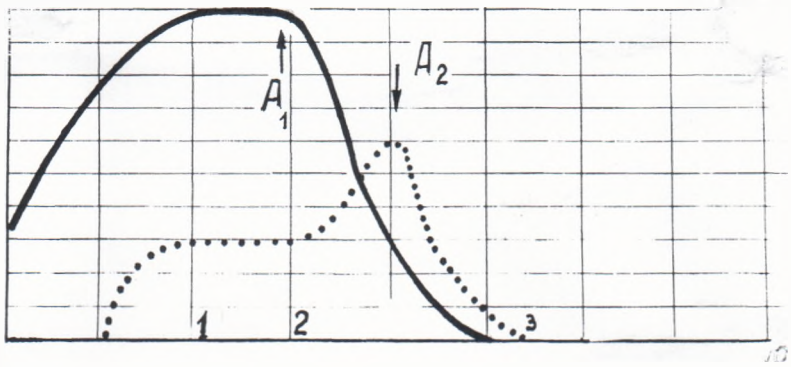

Рис.9.3. Случай развития инфекционного процесса (макропопуляции возбудителя) при лечении сначала антибиотиком А1, а затем антибиотиком А2. Обозначения те же, что и на рис.9.1 и 9.2. Удачно выбранное время смены антибиотиков приводит к гибели чувствительных и резистентных возбудителей ещё до развития иммунного ответа.

Создание канонической модели является основополагающим этапом формирования нового научного направления – математической теории и компьютеризации врачебного сопровождения инфекционного процесса.

Резюме

Разработана система уравнений, моделирующая развитие в организме макропопуляции возбудителя (инфекционный процесс), возникновение резистентного клона, эффективность лечения антибиотиками, эффективность тактики их применения, эффективность и роль иммунного ответа. Модель в общей форме воспроизводит известную феноменологию антибиотикотерапии, что служит основанием считать её «канонической», а также основанием нового научного направления – математической теории и компьютеризации лечебного процесса

Часть 4 МЕГАПОПУЛЯЦИЯ

Эпидемиологию можно было бы определить
как экологию возбудителей заразных болезней
в человеческом обществе
В.М. Жданов

10. ОРИЕНТИРОВОЧНЫЕ ОЦЕНКИ МЕГАПОПУЛЯЦИИ ШИГЕЛЛ ЗОННЕ

В разделе 1.1 было обусловлено, что популяцию возбудителей на уровне коллективов и среди населения регионов мы будем именовать и рассматривать как «мегапопуляцию». Охарактеризовать динамику генеза макропопуляций, нам представилась возможность на примере шигеллёза Зонне. В семидесятые годы прошлого столетия Министерство здравоохранения Украины было озабочено частыми эпидемическими вспышками кишечных инфекций, обусловленными потреблением загрязнённых шигеллами Зоне продуктов молокозаводов и молочных кухонь. Стратегия санэпидслужбы страны была нацелена на выявление носителей шигелл среди персонала молокозаводов, пищевых предприятий и молочных кухонь. Так как это подход годами не приносил положительного результата, мы предположили, что шигеллы Зоне распространяются как оппортунистическая микрофлора по типу бытовой передачи. Решение вопроса мы усматривали в постановке массовых исследований на распространённость, длительность и массивность выделения шигелл Зонне среди детского и взрослого населения. Для того чтобы результаты исследования отражали неискажённый ход эпидемического процесса, Минздрав Украинской ССР издал специальный приказ, запрещавший органам санитарно-эпидемиологической службы без разрешения исследовательской группы вмешиваться и проводить противоэпидемические мероприятия. Программа исследований был разработана нами совместно с О.В.Шиманским и Н.И.Горегляд.[36,37,38]. Администрирование проекта осуществляли профессор М.Н.Мельник и К.М.Синяк. На протяжении 1974 – 1980 г.г. в Житомирской, Киевской, Запорожской и Одесской области было обследовано 106 485 детей и взрослых.

Для обеспечения количественного отбора ректального материала была разработана специальная конструкция дозировочной петли (см. рис. 10.1). Петли изготавливались из округлённого алюминия и содержали с обеих сторон по желобу. Петли монтировались в пробирках с 5 мл стерильного изотонического раствора NaCl. Будучи достаточно тонкими чтобы не вызывать болезненных ощущений, петли вводились в анальное отверстие на строго ограниченную глубину. При этом отбиралось в среднем 0,18 г содержимого прямой кишки, которое ресуспендировалось в 5 мл, содержащегося в пробирке изотонического раствора. Этот материал засевался в разведениях на элективные среды для оценки видовой принадлежности, массивности и длительности носительства S. sonnei.

Подлежащий обследованию детский или взрослый коллектив (детские садики, общежития, интернаты) обследовались поголовно 1 раз в неделю на протяжении 3-х месяцев. При выявлении носителя S. sonnei его не лечили, но материал для анализа забирали дозировочными петлями ежедневно до прекращения бацилловыделения. Никаких противоэпидемических мероприятий в учреждении не проводили, но внимательно следили за температурой, жалобами на самочувствие и дисфункциями кишечника у носителей.

Ещё ранее было замечено, что любая достаточно большая выборка (до 1000 и более) обследованных лиц на день обследования содержит в среднем 0,2 % носителей совершенно об этом не подозревающих. Это говорило о том, что население имеет

Рис. 10.1 Пробоотборная петля. Описание в тексте.

Таблица 10.1

Длительность носительства шигелл Зонне по интервалам дней.

Длительность носительства в днях	1-5	6-10	11-15	16-20	21-25	26-29	30 и более
Число носителей	45	12	8	7	2	7	4
% от суммы носителей	53	14,1	9,4	8,23	2,35	8,23	4,7

Таблица 10.2

Массивность выделения шигелл Зонне по интервалам дней носительства

Концен-трации	1-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18	19-20	20-30	30
$10^6 - 10^7$	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0
$10^4 - 10^5$	3	2	4	3	0	0	0	2	1	1	4	1
$10^3 - 10^4$	3	5	1	2	5	4	5	5	0	2	8	5
$10^2 - 10^3$	28	7	4	8	2	5	6	4	3	0	11	11
Не выде-Лены	7	10	7	14	10	7	9	6	7	0	22	15
Обследо-вано лиц	42	24	16	27	18	17	21	17	12	3	46	32

средний постоянный уровень поражённости носительством шигелл Зонне, по-видимому, не зависящий от эпидемических вспышек. Основываясь на этом допущении, попробуем произвести пробный расчёт среднего числа носителей на 100 000 населения

в год и числа возбудителей, выделяемых «средним» носителем, в день. Для этого используем результаты исследований отражённых в табл. 10.1 и 10.2.

Чтобы вычислить средний уровень выделения шигелл на носителя, необходимо общее количество шигелл, выделенное всеми носителями поделить на их число. Максимальные значения выделения шигелл были получены на первый день, что отражено во втором столбце. Пользуясь данными таблицы 10.2, вначале произведём расчет по нижнему уровню интервала концентраций:

$$M_{min} = \frac{10^2 \cdot 28 + 10^3 \cdot 3 + 10^4 \cdot 3 + 10^6 \cdot 1}{42} = 3699285 \cong 3{,}7 \cdot 10^6$$

Аналогичный расчёт по верхнему уровню интервала концентраций даёт величину $M_{max} = 3{,}7 \cdot 10^7$. С учётом среднего объёма каловых масс – 150 см^3 эти величины составят интервал значений $5{,}55 \cdot 10^8 - 5{,}55 \cdot 10^9$ микробных тел на носителя в сутки.

Чтобы вычислить число носителей в год недостаточно располагать показателем их разового обнаружения, который, как мы указывали, составлял 0,2% (200 на 100 тыс. населения) от числа обследованных. Необходимо ещё учитывать среднюю продолжительность заразовыделения и, особенно, время, когда происходит передача возбудителя к очередной жертве.

Последняя величина составляет промежуток времени между заражением и передачей возбудителей очередной жертве. По своему смыслу данный параметр является новой эпидеметрической величиной, обозначенной нами как *время эпидемического взаимодействия* [38].

Если источник инфекции не больной, а носитель, то он представляет опасность на протяжении всего времени бацилловыделения. Следовательно, вероятность заразиться от него в первую половину заразного периода равна вероятности заразиться от него во вторую половину. Тогда среднее значение времени эпидемического взаимодействия будет составлять половину среднего заразного периода плюс инкубационный период, по формуле:

$$\tau = \frac{1}{2} \cdot \frac{n_1(1) + n_2(2) + \cdots + n_i(i)}{n_1 + n_2 + \cdots + n_i} + T \qquad (29)$$

где: τ - время эпидемического взаимодействия; $n_1, n_2 \cdots n_i$ - число носителей, выделявших возбудители в течение *1* суток, *2* суток ...*i* суток; в скобках – длительность выделения в сутках; *T* – инкубационный период.

Величина инкубационного периода для носительства шигелл Зонне неизвестна. Материалы 6-й и предыдущих глав позволяют заключить, что нет никаких теоретических и экспериментально обоснованных препятствий к тому, чтобы принять *T* = 1 суткам. С учётом этого, расчёт по данным таблицы 10.1 показал, что время эпидемического взаимодействия $\tau \cong 6$ суток. Поскольку уровень поражённости населения носительством шигелл Зонне в течение многих лет был стабилен и составлял около 0,2% (200 на 100 000 населения), значит в-среднем каждый носитель был источником заражения только для одной жертвы. Это значит, что в год происходило 365: 6 = 60 генераций носительства.

С учётом того, что выявляемость носительства при бактериологическом исследовании не превышает *q = 0,7*, при уровне поражённости z = 200, число носителей на 100 000 населения в год определяет соотношение:

$$N_c = \frac{365}{\tau\, q}\, z = \frac{365}{6 \cdot 0{,}7}\, 200 = 17381 \qquad (30)$$

Перемножив полученное значение на показатели суточного выделения шигелл, можно получить годовой уровень выделения шигелл в интервале от $9{,}6 \cdot 10^{12}$ до $9{,}6 \cdot 10^{13}$ на 100 тыс. населения.

Полученные нами числовые значения имеют сугубо ориентировочный характер, потому, что ни один параметр не был подвергнут статистической верификации, а также потому, что мы задались целью произвести только пробные расчёты, а не точные определения. Несмотря на это отягчающее обстоятельство, полученные данные в первом приближении не содержат сколько-нибудь значимых противоречий и несуразностей. Прежде всего, полученные данные показывают, что шигеллы Зонне обладают достаточно обширным ресурсом для репродукции своего вида за счёт носительства. Уровень распространения носительства настолько велик (17381 на 100 тыс.), что возможно каждый 5-й житель Украины раз в году становится на несколько дней бессимптомным продуцентом шигелл Зонне. В свете этих данных единственным надёжным средством предупреждения пищевых и молочных вспышек являются технологии, категорически исключающие любые формы контакта человека с продукцией пищевых предприятий, от самых малых до самых больших.

Существовавшая ранее практика контроля работников пищевых предприятий на предмет носительства шигелл Зонне и других возбудителей пищевых токсикоинфекций была не только бесполезна, но и вредна. Ибо она долгое время связывала эпидемические вспышки не с технологией, а с медицинским фактором, в частности с недостаточным уровнем санитарно-эпидемиологического контроля и надзора. Надлежащий уровень технологии молочных продуктов в мире и в Украине привел к исчезновению «молочных» эпидемий. Сейчас пищевые вспышки остались на уровне молочных кухонь, точек общественного питания, детских учреждений, лагерей и санаториев. То есть везде там, где в технологии сохраняется возможность контакта человека и продукта питания.

Источником ещё большей заболеваемости, чем кишечные инфекции, являются инфекции верхних дыхательных путей (т. наз. «респираторные»), широко распространённые среди людей и животных, обитающих в закрытых помещениях. Жизнь меганопуляций возбудителей респираторных инфекций в полной мере подчинена второму закону эпидемиологии Л.В.Громашевского. Однако функция механизма передачи при инфекциях верхних дыхательных путей определяется физическими параметрами, продуцируемых человеком бактериально-вирусных аэрозолей, и закономерностями их движения в закрытых помещениях. Этим проблемам посвящены материалы следующей 11-й и 12-й главы

Резюме

Организованное Министерством здравоохранения УССР и сотрудниками Института эпидемиологии и инфекционных болезней массовое обследование детских и взрослых коллективов на массивность и длительность выделения шигелл Зонне, показало, что этот возбудитель широко распространён в форме бессимптомного носительства. По ориентировочным расчётам почти каждый 5-й житель Украины на несколько дней раз в году становится бессимптомным носителем этого микроба. Биомасса шигелл Зонне на 100000 населения может составлять до 10^{15} микробных тел в год.

Нельзя проводить грань между большим и малым,
ибо то и другое одинаково важно
для единого целого
Нильс Бор

11. ЗАКОНОМЕРНОСТИ АЭРОЗОЛЬНОГО МЕХАНИЗМА ПЕРЕДАЧИ И ЕГО УЯЗВИМОСТЬ.

Возбудители капельных инфекций проникают и обычно репродуцируются в слизистой оболочке дыхательных путей. Филогенетически и эмбриологически дыхательные пути человека и млекопитающих закладываются отшнурованием от кишечной трубки. Это приводит к тому, что общий план строения слизистой оболочки дыхательной трубки подобен кишечной. Она тоже покрыта слизистой оболочкой с базальной мембраной и выстилкой из однослойного либо многорядного эпителия, с вкраплениями многочисленных бокаловидных клеток. В отличие от кишечника, продвигающего содержимое перистальтикой, дыхательный эпителий снабжён ресничками, волнообразные движения которого направлены в сторону проксимальных отделов респираторного тракта. Эту функцию усиливают экспираторные акты – речь, кашель, чихание и сморкание.

Больной человек, при экспираторных актах исторгает множество разновеликих капелек слизи с возбудителями. При экспираторных актах импульс выдоха осуществляется прохождением воздушной струи чрез сомкнутые поверхности слизистой оболочки трахеи, гортани, носоглотки и полости рта. Возникающий в плоскости смыкания перепад давлений и близкое к скорости звука движение воздушной струи отрывает и увлекает за собой частицы слизи и приводит к возникновению разновеликих частиц диаметром от 1 до 2000 мкм. Это приводит к возникновению аэродисперсной системы с разноразмерной взвешенной фазой. Независимо от величины частиц взвешенной фазы, такая система является аэрозолем и соответствующий механизм передачи должен именоваться «аэрозольным», с чем согласился в своё время Л.В.Громашевский. Это не отрицает права на использование исторического, но устаревшего и физически некорректного термина «капельный».

Движение аэрозольных частиц в воздушной среде определяется их величиной. Частицы диаметром более 100 мкм преодолевают сопротивление воздуха и разлетаются по баллистическим траекториям. Частицы меньшей величины такой «пробивной» силой не обладают и образуют облачко, то есть достаточно компактную структуру, двигающуюся вместе с собственной дисперсной средой, - экспирированной порцией воздуха. Между дисперсной фазой (частицами) и дисперсной средой (воздухом) возникают согласованные и несогласованные перемещения. Чем меньше размер частиц, тем выше согласованность их движения с движением дисперсной среды. Чем масса частиц больше, тем выше их инерция, тем меньше их увлекают воздушные потоки.

Частицы аэрозоля, исторгнутые одним человеком, попадают в дыхательные пути другого (реципиента) только при их аспирации (вдыхании). Оседая на поверхности дыхательного эпителия, они адгезируются. Закономерности адгезионного процесса в органах дыхания предположительно такие же, как и те, которые были описаны в разделе, посвященном генезу микропопуляции в кишечнике. Но численные значения параметров C_{max}, u, D, μ_{max} E_0 должны иметь другие значения, зависящие от

своеобразной структуры дыхательного эпителия и органов дыхания, а также от иных биологических свойств возбудителей.

Каждая осевшая частица, если она содержит некоторое количество микробов или вирусов, осуществляет точечную контаминацию слизистой оболочки. Приведёт это к возникновению очага первичной инокуляции инфекции или не приведёт, зависит от загруженности частицы возбудителями. Всё зависит от того способна ли частица выполнить функцию инфектона, или для этого ей не хватает возбудителей, исходя из фундаментального соотношения инфекционной дозы: $B = P_{эф} S$ (25)

Содержание микробов в частицах задаётся их концентрацией в распыляемом материале. При капельных инфекциях таким материалом является слюна, носоглоточная и трахеобронхиальная слизь больного. При этом распределение микробов по частицам подчиняется закону пропорциональности кубу их радиуса. Но на содержание микробов в частицах ещё оказывают влияние флуктуации распределения микробов в распыляемо материале и в процессе распыления. Поэтому заражать будут не все частицы, которые по расчёту должны были выполнять функцию инфектонов.

Наиболее полный учёт распределения микроорганизмов в частицах, выбрасываемого человеком аэрозоля может быть основан на данных исследования J.P.Duguide [39], которые, по крайней мере, для нас, сохранили своё значение до настоящего времени. Автор этих исследований сумел оценить число частиц каждого интервала радиусов при самом сильном экспираторном акте – чихании, а также при кашле и разговоре. Характеристики аэрозоля, образованного наиболее сильным экспираторным актом человека – чиханием, были рассчитаны нами на основе данных J.P.Duguide и приведены в табл.11.1.

В 6-м столбце таблицы приведены расчётные данные для случая распыления микробной суспензии с концентрацией 10^9 *мко/см*^{3}. Результаты расчётов, конечно должны оцениваться только как математическое ожидание, потому что при разных инфекциях концентрация микробных клеток и вирионов в слюне и носоглоточной слизи может быть и больше, и меньше миллиарда. Перепад значений, как мы думаем, достигает одного порядка. Для миллиардных значений это не так уже много, тем более что избранная нами величина концентрации близка к М-концентрации многих микробных видов. С учётом этих оговорок, данные 6-го столбца дают основание для ряда важных допущений.

Первое из них касается мелкокапельной фракции аэрозоля интервала размеров от 1 до 16 микрометров. Содержание в них микроорганизмов настолько мало, что едва ли способно вызвать заражение, особенно с учётом концепции инфектонов. Приведенные в таблице дробные значения нужно понимать так, что в аэрозоле присутствуют значительные количества безмикробных частиц. Мелкие частицы (прежде всего безмикробные), претерпевают быстротечное испарение, (в течение десятых долей секунды). Они настолько уменьшаются, что становятся соизмеримыми с так называемыми ядрами конденсации - твердотельными или капельножидкими частицами диаметром от 10^{-3} до 10^{-7} см (Wells W.F.[47]). В эпидемиологической литературе они несколько демонизированы и фигурируют под названием «капельных ядрышек» (англ. - droplet nuclei). На самом деле это просто мелкие частицы, которые к тому же очень часто вообще лишены микробов [5] и поэтому эпидемиологического значения иметь не могут..

Таблица 11.1

Характеристики полидисперсного аэрозоля образованного при акте чихания

Диаметр частицы (мкм)	Число частиц	Объём (вес) частицы ($мкм^3$)	Объём (вес) частиц фракции ($мкм^3$)	Доля фракции в общем объёме	Расчет числа микробов в частице при распылении 10^9 $мко/см^3$
1	2	3	4	5	6
1- 2	26	2.3	0000061	0.000082977	0.002
2-4	160000	18.85	3016000	0.000004184	0.018.
4-8	350000	150.79	52778880	0.000073235	0.150
8-16	280000	1206.00	337784832	0.000468707	1.
16-24	97000	4659.00	451942400	0.000627111	4.
24-32	37000	12213.90	448215040	0.000621939	12.
32-40	17000	25159.60	42771456	0.000059349	25.
40-50	9000	49140.00	442260000	0.000613676	49.
50-75	10000	142187.50	1421875000	0.001972982	142.
75-100	4500	369687.00	1663593750	0.002307585	369.
100-125	2500	767812.00	1919531250	0.002663525	767.
125-150	1800	1385312.00	2493593750	0.003459266	1385.
150-200	2000	2957500.00	5925000000	0.008221481	2957.
200-250	1400	6142500.00	85995000000	0.011932596	6142
250-500	2100	36562500.00	76781250000	0.106541038	36562
500-1000	1000	292500000.00	292500000000	0.405870623	292500
1000-2000	140	2334000000.00	327600000000	0.454575098	2334000

Здесь следует оговориться, что такие оценки как «мелкие», «среднедисперсные» или «средние», а также «крупные» и «грубодисперсные» размеры (радиусы или диаметры) при аэрозольной передаче инфекции, не совпадают с аналогичными терминами классической механики аэрозолей [40] . В классической теории, размеры частиц более 10^{-4} $см$ (1 $мкм$) относятся к категории грубодисперсных. То есть диапазон размеров частиц аэрозольного механизма передачи относится к грубодисперсным. В целом для этого диапазона свойственно то, что оседание преобладает над броуновским движением, константа коагуляции не зависит от размера и в осаждённом состоянии частицы видимы в микроскоп

В диапазоне размеров от 200 до 2000 мкм содержание микробов огромно, но эти частицы, как будет показано далее, слишком тяжелы, чтобы аспирироваться в

дыхательные пути человека. Кроме того, уже начиная с размера в 100 - 250 мкм и выше, скорость осаждения становится настолько высокой, что за секунды и доли секунд воздух от них освобождается (табл. 11.2)

Со времён Langmuire A.D.[41] помимо пылевого принято учитывать не один, а два вида аэрозольных механизмов передачи. Так, в закрытых и плохо вентилируемых помещениях должен накапливаться мелкодисперсный аэрозоль, способный обеспечить высокий уровень заражения (так наз. «аэрогенное заражение»). Второй вариант - это прямая передача при близком общении источника и реципиента инфекции (т. наз. «контактный способ»), который якобы менее актуален.

Наши исследования, а также фундаментальны работы Л.А.Фаворовой [21,22], и её школы, данные Tyrell A.J at al.[43], Couch R. at al [42], давно показали, что эпидемический процесс обеспечивается вторым вариантом - прямой («контактной») передачей инфекционного аэрозоля при близком общении больного или носителя с реципиентом. Наоборот, первый вариант - «аэрогенное заражение» - относится к числу эксквизитных событий и эпидемический процесс обусловить не может.

Таблица 11.2

Ориентировочные данные по скорости оседания и времени самоочищения неподвижной воздушной среды от капельножидких частиц в зависимости от их размеров*)

Радиус капель	Диаметр капель (в мкм)	Скорость оседания (в см/сек)	Теоретическое время самоочищения в неподвижном воздухе
0,5	1	0.003	18.5 часов
2,5	5	0.076	43.8 минуты
5	10	0.305	10,9 минут
12,5	25	5,9	2,6 минут
25	50	7.6	26.3 секунд
50	100	30.5	6.5 секунды
100	200	95	3,2 секунды
200	400	162	1,9 секунды
250	500	760.0	0.26 секунды

*) Данные по диаметрам и скоростям падения заимствованы у В.С.Ярных, П.П.Лярских, В.М.Цетлина

Это не следует понимать так, что первый вариант вообще невозможен. Но для его реализации требуется совпадение многих условий. Необходимо затхлое помещение и попадание туда череды больных или носителей, в таком количестве, чтобы поддержать достаточную инфицированность большого воздушного объёма. Для этого требуется очень высокий уровень выделения возбудителей, перекрывающий скорость их отмирания в воздухе и низкую частоту их попадания в мелкие частицы. Должна обеспечиваться также достаточная продолжительность пребывания реципиентов в помещении. Возможно, такие условия присущи местам заключения и казармам.

Передача инфекции пылевым способом, конечно, тоже возможна, но требует выполнения ещё большего числа условий. Из них наиболее существенными являются достаточная выживаемость возбудителей при высушивании и не слишком большая величина частиц вторичного аэрозоля, возникающего при ресуспендировании (возвратной аэрозолизации) высохших капель инфицированной слюны и слизи. Кроме того, необходим побудитель ресуспендирования – воздушный поток или другой фактор, который, как показывают данные механики аэрозолей, должен обладать достаточно большой силой и энергией для отрыва адгезированных к поверхностям осевших частиц. Всё это не даёт оснований считать пылевой способ передачи причиной массовой заболеваемости капельными инфекциями.

Поэтому здесь и далее мы будем рассматривать только прямую передачу экспираторного аэрозоля в условиях близкого общения источника и реципиента инфекции, считая его окончательно доказанным ведущим способом передачи возбудителей через воздух.

11.1 Аэродинамический подход к изучению аэрозольного механизма передачи

Основными приборами для наблюдения над возникновением и развитием аэродисперсных систем, при передаче инфекции, является импактор и кинокамера. Для того чтобы сделать аэрозольное облако видимым и доступным кинорегистрации используется эффект Тиндаля – рассеяние света частицами. Для этого применяются мощные осветительные системы. В импакторах аэрозоль просасывается через зауженные отверстия. Улавливание частиц основано на их прилипании при ударе о поверхность предметного стекла или агаровой пластинки в момент резкого поворота струи аэрозоля. Импакторы хорошо улавливают крупные частицы и дают возможность их рассматривать и подсчитывать под микроскопом.

Однако, человеческая речь, кашель и чихание состоят не только из хорошо заметных крупных капелек. В экспираторном аэрозоле присутствуют менее заметные мелкие частицы. Они, как указывалось выше, больше подчинены движению воздушной среды. Это диапазон размеров менее 100 мкм. Следуя за воздушными потоками, повторяя их движение, они дольше остаются во взвешенном состоянии. Свойство следовать за движениями дисперсной среды упрощает моделирование и оценку переноса заразного начала от человека к человеку. Благодаря этому, трудновыполнимое изучение движения отдельных частиц, может быть заменено более доступной оценкой движения и аспирации целого аэрозольного облака. Если, аэрозоль дополнительно контрастировать дымами, картина заражения через воздух может быть воссоздана и отснята с необходимой полнотой.

Оценить в ней состояние средне- и мелкодисперсной фракции станет возможным, если будут установлены скорости движения аэрозоля, направленность, размеры, взаимодействие с воздушными течениями и закономерностями их аспирации человеком. То есть всё то, из чего слагается судьба аэрозольного механизма передачи и что составляет его *аэродинамику*.

С учётом этих задач были разработаны аэродинамическая труба 0,8 м х 0,8 м х 1,5 м, оснащённая системой кино-фото-регистрации, мощными щелевыми осветителями, струйными генераторами дыма, широколопастными крыльчатками с регулируемой скоростью вращения и импактором.

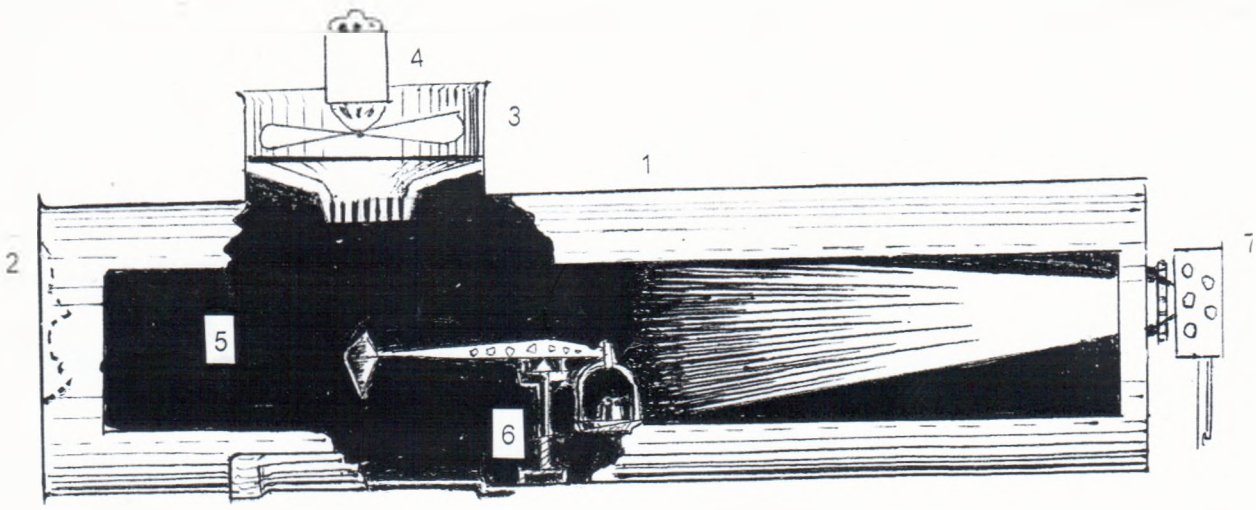

Рис. 11.1 Схематический чертёж аэродинамической трубы для моделирования и изучения экспираторных актов человека. Материал трубы – гибкий дюралюминий. Труба представляла собой полый цилиндр (1), диаметром 0,8м, при длине 1,5м, закрытый с одной стороны щитом (2) и открытый с противоположной стороны. В верхней стенке трубы имеется цилиндрический прилив (3) в котором устанавливался побудитель падающего воздушного потока вентиляторного типа с регулируемой скоростью вращения (4). В днище трубы находилось выпускное отверстие с крышкой. Наружная боковая стенка была застеклена (5). Внутренняя поверхность трубы окрашена в чёрный цвет. На выходе устанавливались два мощных ртутно-кварцевых осветителя (7), подключённые в противофазе. Осветители были снабжены щелевыми диафрагмами и ориентированы по центральной оси трубы. Под вентилятором устанавливались аэродинамические весы с датчиком скорости потока в виде грушевидного тела обтекаемой формы (6). В щите было выполнено углубление по формам человеческого лица. Имелись отверстия для глаз, закрывавшиеся клапанами. Углубление для носа и рта имело эргономичные отверстия, которые прикрывались откидным клапаном с наружным приводом. Необходимость в таких устройствах диктовалось наличием сильного светового облучателя. Волонтёр, садясь снаружи щита, прижимал лицо к углублению при закрытых клапанах и включенных осветителях. Перед экспираторным актом фигурный клапан открывался и закрывался после выброса аэрозоля. Такой порядок позволял настраивать осветители и киносъёмку, не подвергая глаза и кожу подопытного лица действию облучателя.

Схема устройства для генерирования дыма показана на рис.11.2. Для генерации дыма пришлось прибегнуть к обычным сигаретам с антиникотиновыми фильтрами. Устройство состояло из компрессора -1, ресивера -2, игольчатого крана-регулятора – 3, ротаметра-4, дымогенератора -5, дымоводов-6 и добавочного приспособления - трассера из 4 трубок с межуточным расстоянием по 1 см.

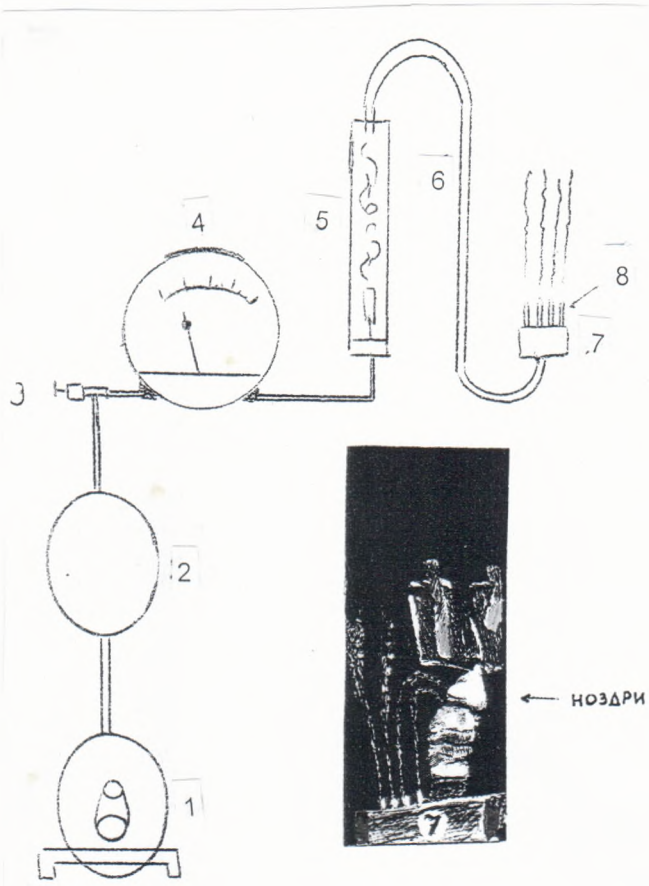

Рис. 11.2. Схема устройства генератора дыма.

Для натурных съёмок была оборудована специальная комната размером 4м х 4.5м х 3м. Стены и окна были зачернены. Была установлена эстакада, на которой под потолком укреплён побудитель падающего воздушного потока, выполненный в виде широколопастной крыльчатки с плечом до 1м. Осветители монтировались в зависимости от задачи эксперимента.

Импактором служила кассета из 10 съёмных предметных стёкол установленных под углом к движению экспираторного аэрозоля, с просветами между ними, направляющими поток вверх.

Расшифровка кинозаписей. Расшифровка велась по-кадрово. Каждый кадр через проектор в увеличенном виде фокусировался на планшете миллиметровой бумаги, устанавливался масштаб и точка начала координат для измерения перемещения фронта аэрозольного облака. Отсчёт времени вёлся по скорости съёмки, установленной и перепроверенной регулировочными устройствами киносъёмочного аппарата. Картины движения фронта аэрозольного облака на планшетах по-кадрово обводились карандашом по наружному краю (контуру). В итоге каждый экспираторный акт выглядел как серия контуров, отражающая их перемещение и завихрения (см. рис.11.3)

Для измерения аэродинамических характеристик движения и развития экспираторного аэрозоля была разработана координатная система полярного типа (см. рис.11.4). Её основой является «ось заражения» - луч, берущий начало от центра смыкания

губ (начало координат), параллельный поверхности пола и перпендикулярный плоскости вентрального сечения черепа с ориентацией по направлению вектора экспирации. Все измерения и оценки движения экспираторного аэрозоля привязывались к оси заражения. Эта координата вводится нами как новый антропометрический параметр.

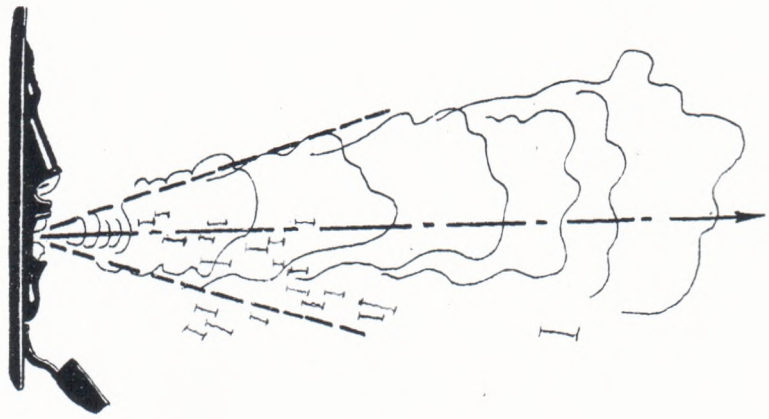

Рис. 11.3. Движение экспираторного аэрозоля при акте чихания. Внизу треки пролёта крупных «баллистических» частиц.

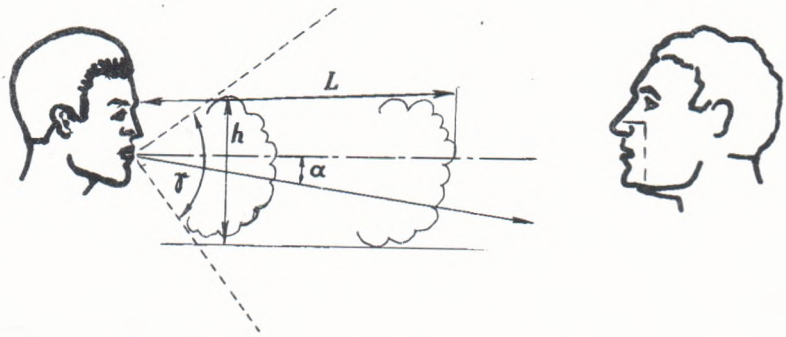

Рис. 11.4. Координатная система движения экспираторных аэрозолей. Объяснения в тексте

Аэрозоль вырывается из уст человека и в своём движении расширяется, образуя фигуру типа неправильного конуса – «конуса рассеивания». Угол при вершине этого конуса обозначается как «угол рассеивания» - γ. Он измеряется в конце активной фазы движения аэрозоля между лучами, проведенными из начала координат к крайним оппозитным точкам переднего фронта облака в момент его остановки.

Второй координатой является «ось экспирации» - вектор экспираторного импульса, являющийся биссектрисой угла рассеивания и осью симметрии экспираторного аэрозоля. «Угол склонения» - α заключён между осью заражения и осью экспирации. При возвышении над осью заражения $\alpha > 0$. Если ось экспирации ниже оси заражения принимается, что $\alpha < 0$. Поперечник облака – h, измеряется перпендикулярно оси заражения, т.е. по вертикали.

11.2. Аэродинамика экспираторных аэрозолей.

Как показали наблюденія, вначале аэрозоль движется взрывоподобно с отрицательным ускорением, пока не иссякает энергия экспирации – это фаза «экспираторного пробега», длинна которого характеризуется параметром $-L_0$. Сопротивление воздушной среды перед фронтом движения облака, придаёт ему грибовидную форму. Как только подпор экспираторной струи прекращается, облако движется далее по инерции, ещё более замедляясь, пока его скорость не уравняется с конпараллельным воздушным течением. Эта фаза определяется нами как «инерционный пробег», длина которого оценивается параметром - L_i. Конпараллельный поток возникает вокруг облака ещё в фазе экспираторего пробега. Хотя скорость его меньше скорости экспираторного пробега, он всё же поддерживает дальнейшее продвижение аэрозольного облака за счёт того, что по отношению к нему облако испытывает меньшее трение. Таким образом, суммарная длина пробега облака:

$$L = L_0 + L_i$$

Речь. Для исследования экспираторных актов речи был разработано 14 модельных слов, обеспечивающие произношение только тех гласных и согласных звуков европейских языков, которые могут генерировать аэрозоли. В латинско-русской литерации список слов представлен в таблице 11.3.

Таблица 11.3

Модельные слова для моделирования экспираторных аэрозолей

Par – пар	Chim – хим	Suk-сук	Fass-фас	tucha-туча
Wer-вер	Lem-лем	Chut- чуть	Gat- гать	Poth
Tor-тор	Mik- мик	Scuka-щука	Noss- нос	

Аэродинамика речевых аэрозолей в активной фазе представлена значениями параметров в табл. 11.4. Ряд слов образовывали по 2 раздельных облака, с разными углами склонения и рассеивания. Минимальный поперечник составлял 14 см (слово Poth), максимальный достигал 36 см (слово Par). Самая большая длина экспираторного и инерционного пробега достигала 40 см (слог tu-cha и слово Poth). Измерение начальной скорости экспирации при разговоре показало, что она не превышает 2 м/сек. Время, за которое тормозится движение облака при речевой генерации составляет половину секунды, иногда больше.

Речевой контакт, как правило, не ограничивается одним односложным словом. Говорящий человек непрерывно фонтанирует аэрозольные облачка, которые накатываются вдоль оси экспирации, образуя аэрозольный поток. Окружающий воздух увлекается им, вызывая слабое конпараллельное течение, повышающее устойчивость потока, и способствуещее его дальнейшему движению вперёд за порогом 40 – сантиметровой дистанции.

Чихание. Это самый мощный патологический экспираторный акт. Он отличается большими начальными скоростями экспирации и объёмом воздушного выброса. На рис.11.3 представлена расшифровка кино-фото-граммы чихания у одного из волонтёров при скорости съёмки 32 кадра в секунду. Максимальное значение скорости экспирации было зарегистрировано на расстоянии 18 см ото рта. Оно составляло 575 см/сек. Экспираторный и инерционный пробег облака L = 90 см, $\alpha = 0$, $\gamma = 38^0$, $h = 22$ см.

Таблица 11.4

Аэродинамические характеристики речевых экспираторных аэрозолей

Слово	Угол скло-нения (град.) α	Угол расе-ивания (град.) γ	Поперечник облака (см) H	Дистанция экспираторного и инерционного пробега (см) L
Pa- -ar	+5 -50	50 57	36	24
Tor	-40	80	24	21
Chim	-35	37	16	26
Le- Em	+20 +30	95 95	21 20	28
Mik	-15	77	26	28
Suk	-40	90	20	32
Chut	-30	100	24	16
Schu- Ka	-42 -6	66 25	26 16	30
Fa- Ass	+32 -60	42 63	18 16	32
Gat	+36	108	26	22
Nos	-18	80	24	28
Tu- Cha	0 -5	40 70	28 20	40
Poth	-23	24	14	40

Наряду с выбросом аэрозоля, чихание сопровождается выбросом крупных частиц, диаметром, приближающимся к 100 мкм и больше. Их пролёт имеет форму нисходящей ветви параболы – баллистической кривой. Поэтому, мы будем в дальнейшем называть их «баллистическими». Часть из них пронизывает облако и улавливается импактором впереди фронта аэрозольного облака. Другая, более крупноразмерная часть, описывая параболу, выпадает из облака по всему пути его следования.

Факел баллистических частиц характеризуется отрицательным значением угла склонения и довольно большим углом рассевания (см. табл.11.5). Такие частицы содержат больше возбудителей, чем средне и мелкодисперсные фракции вместе взятые.

Но скорость оседания фракции размером более 200 мкм, превышает скорость аспирации. Поэтому они не могут попасть в дыхательные пути человека и вызвать заражение. Самой опасной фракцией эксперираторного аэрозоля является, по-видимому, интервал размеров от 24 до 150 - 200 мкм. По весу это составляет от 450 000 000 до 2.4 миллиардов кубических микрометров. В случае аэрозолизации миллиардной суспензии микробов, этот интервал составит от 4 до почти 1400 микробов на частицу (см. табл.11.1).

Чихание варьирует у разных людей и даже у одного и того же лица. Минимальные параметры чихания не так важны как максимальные. Ведь нас могут интересовать только те направления профилактики, которые направлены на предельно высокие параметры заражения. Поэтому в наших исследованиях (табл.11.5) приведены предельные значения, достигнутые волонтёрами. Эти данные показывают, что акт чихания отличается выраженной направленностью и компактностью аэрозоля, малым поперечником (22 см) и продольной вытянутостью облака. Величина угла склонения нулевая или отрицательная, но с малым наклоном ($\alpha = -35^0$). В реальных условиях люди при чихании часто наклоняют голову вниз, поэтому ось эксперации может иметь больший отрицательный угол склонения по отношению к горизонтали, чем тот, который получен в идеальных условиях аэродинамической трубы. Отметим, что согласно J.P. Duguid при чихании выделяется до миллиона частиц.

Кашель. По интенсивности эксперации кашель занимает промежуточное положение между речью и чиханием. Так, угол склонения варьирует от -14^0 до - 45 ^{0}, угол рассеивания достигает 52-60^0, поперечник 16 – 21 см, эксперираторный и инерционный пробег достигает 32-38 см. Распределение размеров частиц при кашле такое же, как при чихании, но количество частиц составляет всего около 5000.

Речь. Обобщённые аэродинамические параметры речи составляют угол склонения от +5 до – 60 градусов, угол рассеяния до 108 градусов, поперечник облака около 36 см и дистанция активного пробега до 40 см. (табл. 11.5). Число частиц, по J.P.Duguid, при произношении 100 слов всего 250. Но если учесть суточную речевую активность человека, то согласно В.И.Трифонову, эта величина возрастает в 360 раз.

Турбулентность. Существенным для аэродинамики аэрозольного выброса является характер турбулентности. Образующиеся при этом вихри теоретически могли бы способствовать забросу частиц аэрозоля в направлениях, не совпадающих с осью заражения. Измерение турбулентного течения эксперираторных аэрозолей удавалось провести лишь по внешним границам облака. Их величина зависела от «энергии» эксперираторного акта. Самые крупные наблюдались при чихании (до 10 см в поперечнике). Самые мелкие при разговоре (до 1 см в поперечнике).

Скорость вращения вихрей определению не поддавалась, однако визуально она составляла величину порядка 1 оборота за 1 – 3 сек в конце активной фазы движения аэрозоля. С переходом в инерционную фазу вращение вихрей прекращалось. Характер и быстрота вращения вихрей не дают оснований считать, что они, каким либо способом, могут изменить закономерности движения эксперираторных аэрозолей в воздушной среде, которые были описаны выше. Однако зарождение вихрей, по-видимому, способствует возбуждению конпараллельных течений и грибовидному расширению облака. Этим их роль исчерпывается

Таким образом, аэродинамика эксперираторных актов человека показала, что речевые аэрозоли с частыми перебросками оси эксперации выше и ниже оси заражения образуют в основном горизонтальный поток с поперечником около 50 см с дистанцией

Таблица 11.5

Максимальные значения аэродинамических параметров экспираторных аэрозолей человека

Вид экспираторного акта	Угол склонения (α^0)	Угол рассеивания (γ^0)	Размер поперечника облака (см)	Дистанция активного пробега (см)
Речь	+5 – (-60)	108	36	40
Кашель	-14 – (-45)	60	21	38
Чихание	0 – (-35)	38	22	90
Разлёт баллистических частиц	-20	40	-	-

Таблица 11.6

Количество вихрей в экспираторном аэрозоле по размерам

Поперечник вихря (см):	10 см	8 см	6 см	5 см	4 см	3 см	2 см	1 см
Слово «мак»	-	-	-	-	21	80	43	64
Кашель	-	-	-	11	44	92	49	19
Чихание	10	53	56	22	8	3	-	-

пробега 40 см, и дальнейшим пассивным движением за счёт подпора экспираторного потока речи. Кашель и чихание, в отличие от речевых аэрозолей, более узконаправлены. К тому же, согласно классическим исследованиям Duguide J.P. они на много более концентрированы по числу частиц и по микробному содержанию.

Зона захвата. Пространственная обособленность аэрозольных облаков, эксперируемых человеком, показывает, что заражение реципиента возможно только при их попадании в зону аспирации верхних дыхательных путей. В связи с этим особое значение приобретает установление величины, формы и степени активности зоны аспирации, или «захвата» аэрозолей у человека. Изучение и оценка «зоны захвата» была осуществлена нами при помощи тонких струй дыма, позволивших по изменению формы и скорости движения определить необходимые характеристики.

Результаты кинорегистрации аспирационных потоков при спокойном дыхании показали, что они обнаруживают себя не далее 7 см от ноздрей. На этом расстоянии скорость аспирации очень мала и не превышает 0,64 см/сек. По направлению к отверстию ноздрей она возрастает до – 12 см/сек., а в самих отверстиях достигает 30-40 см/сек.

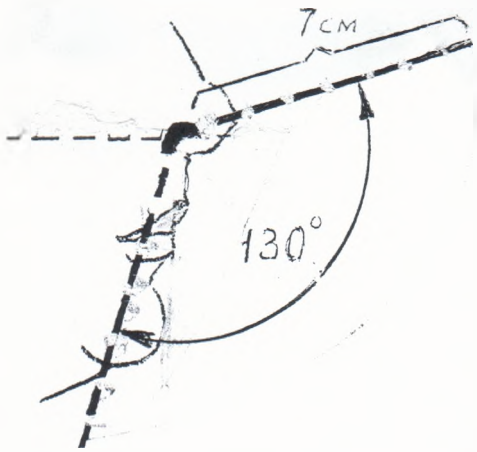

Рис. 11.5 Зона захвата в форме сферического сектора радиусом 7 см подносового пространства лица человека.

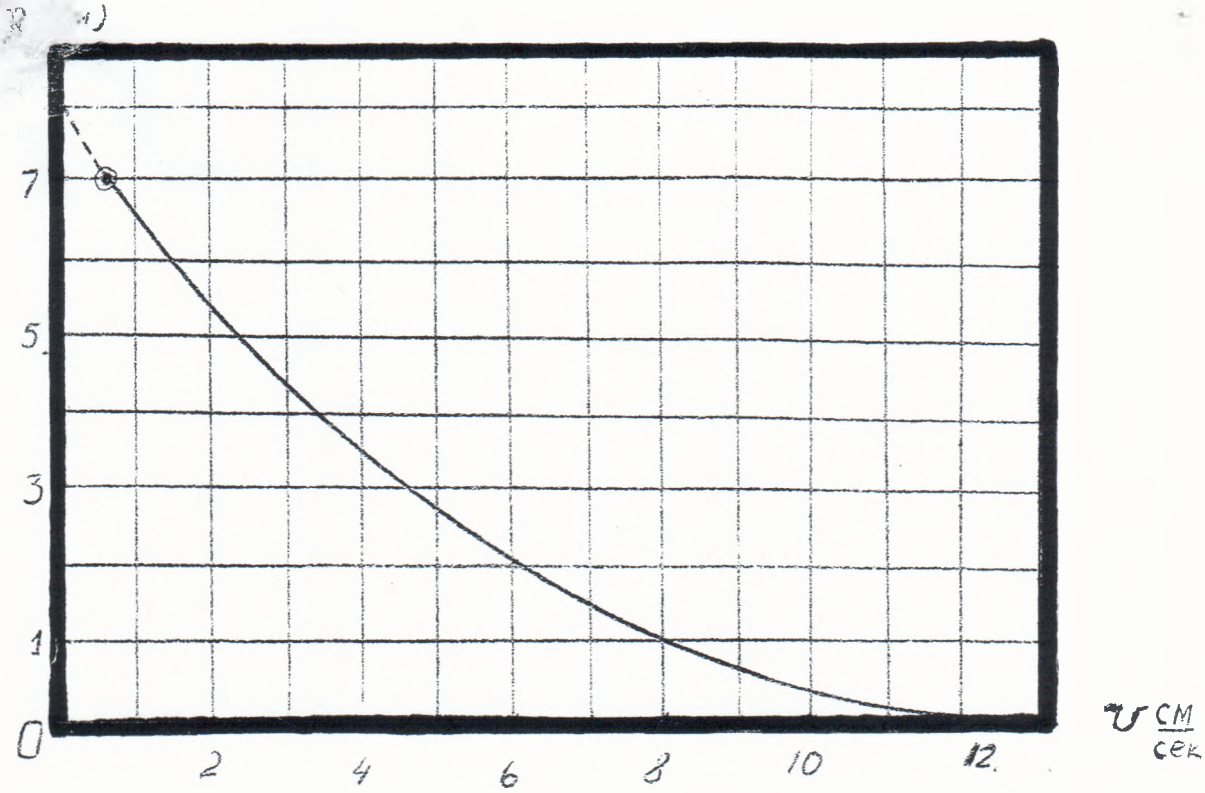

Рис.11.6 Номограмма скоростей аспирации в зависимости от расстояния до ноздрей

По данным В.И. Огаркова и Н.Г.Гапочко [48]эта скорость меньше и колеблется между 2,1 и 8,4 см/сек. По-видимому, отличия этих значений обусловлены индивидуальными особенностями носовых отверстий испытуемых лиц и их респираторной активностью. Но если доверять полученным результатам, то баллистические частицы размером более 200 мкм не могут быть аспирированы, так как скорость их седиментации существенно выше скорости аспирации.

Измерение скоростей аспирации позволило очертить форму и размеры зоны захвата аэрозолей. По нашим данным зона захвата представляет собой обращённый книзу

сферический сектор, с центром у основания носовой перегородки. Диаметр сектора слева направо - 14 см (радиус 7 см), угол между полукружиями сторон - 130^0 (см. рис.11.5). Таким образом, зона захвата почти полностью совпадает с подносовой частью лица человека. При расчётах можно принимать, что она занимает площадь порядка 100 $см^2$.

Подробная расшифровка кадров аспирационных трасс дымовых струй позволила составить номограмму скоростей всасывания, представленную на рис.11.6.

Прицельное свойство» аэрозольного механизма передачи.

Исследования по аэродинамике экспираторных аэрозолей, показали, что этот механим передачи обладает строгим *прицельным* свойством: от взаимной ориентации источника инфекции по отношению к реципиенту зависит попадание аэрозоля в зону захвата. Если аэрозоль не попадёт в зону захвата, он не будет аспирирован и заражение не состоится. Это значит, что для эффективного срабатывания аэрозольного механизма передачи необходимо, чтобы источник аэрозоля находился лицом к лицу с его реципиентом на расстоянии дистанции полного пробега аэрозоля. По данным табл.11.5 дистанция пробега достигает 90 см. Уникальные прямые исследования Л.А.Фаворовой и И.В.Трифонова в детской колонии закрытого типа, где были точно локализованы источники и реципиенты дифтерийной инфекции, показали что расстояние эффективного заражения приближается к полученным нами данным и составляет в около 100 см.

Перерыв механизма аэрозольной передачи с помощью воздушных потоков. Антиреспираторный режим вентиляции.

Из прицельного свойства следует, что достаточно не допустить попадания аэрозоля в зону захвата реципиента и заражение не состоится. Это может быть достигнуто разными способами, но особое значение имеет использование направленных воздушных течений. Если сместить аэрозоль воздушным потоком с оси заражения, передача инфекции станет невозможна. Направление смещения имеет существенное значение. Так, смещение воздушным течением вверх (по направлению конвекционных потоков) может подхватывать оседающие частицы из нижележащих горизонтов, возвращать их на уровень оси заражения, то есть вместо предупреждения усугублять возможность заражения. Именно так действуют современные системы вентиляции. Смещение аэрозоля воздушным потоком влево или вправо от зоны захвата может быть эффективно только для заведомо фиксированых положений источника и реципиента. И только смещение вниз может претендовать на эффективное прерывание аэрозольного механизма передачи для любых положений источника и реципиента инфекции.

Скорость и величина смещающего воздушного потока может быть расчитана. Но для этого нужно сформулировать граничные условия. Во-первых, необходимо ориентироваться на самый максимальный экспираторный акт – чихание, потому что всё, что способно прервать его инфицирующую функцию, будет тем более эффективно для более слабых экспираторных актов. Во-вторых, смещающий поток должен оцениваться по отношению к двум объектам – аэрозольному облаку и баллистическим частицам аспирируемого диапазона. При максимальном поперечнике в 48 см (слог tucha) и максимальном значении времени суммарного пробега 1,24 сек (чихание), скорость смещения потока составит: 48: 1,24 = 38,7 см/сек. Если учитывать только поперечник аэрозоля при чихании, то скорость смещения может быть вдвое меньшей: 22: 1,24 = 20,16 см/сек

Пролёт баллистических частиц, как показывает кинограмма чихания рис.11.3 происходит вдоль и ниже оси заражения. Вследствие этого для их отклонения вниз

достаточно, чтобы за время пролёта они снизились на половину угла рассеивания, то есть ориентировочно на 38 см. В этом случае скорость смещающего потока составит 38 :1,24 = 30,6 см/сек. Приведенные расчёты позволяют полагать, что падающий воздушный поток уже при скорости 38 см/сек способен отвести экспираторный аэрозоль достаточно далеко вниз, чтобы он не попал в зону аспирации реципиента такого же роста как источник инфекции.

Для проверки этого положения было изучено влияние падающего воздушного потока на аэродинамику наиболее сильного экспираторного акта – чихания в условиях аэродинамической трубы, а также в натурном опыте – в специально оборудованной комнате.

Аэродинамическая картина экспираторного акта представлена на рис.11.7, на котором ясно видно, что под влиянием падающего потока аэрозольное облако сошло с траектории оси заражения и ушло через выпускное отверстие поддона трубы. Такой же результат был получен в натурном эксперименте, в котором побудителем падающего потока был плафонный вентилятор (рис.11.8)

Таким образом, экспериментальная проверка смещения облака падающим потоком в трубе и натурном эксперименте показала достаточное совпадение с теоретическим расчётом. Тем самым подтверждена реальная возможность разработки таких систем вентиляции закрытых помещений, которые способны прерывать аэрозольный механизм передачи.

Рис. 11.7 Движение аэрозоля при чихании в падающем воздушном потоке.

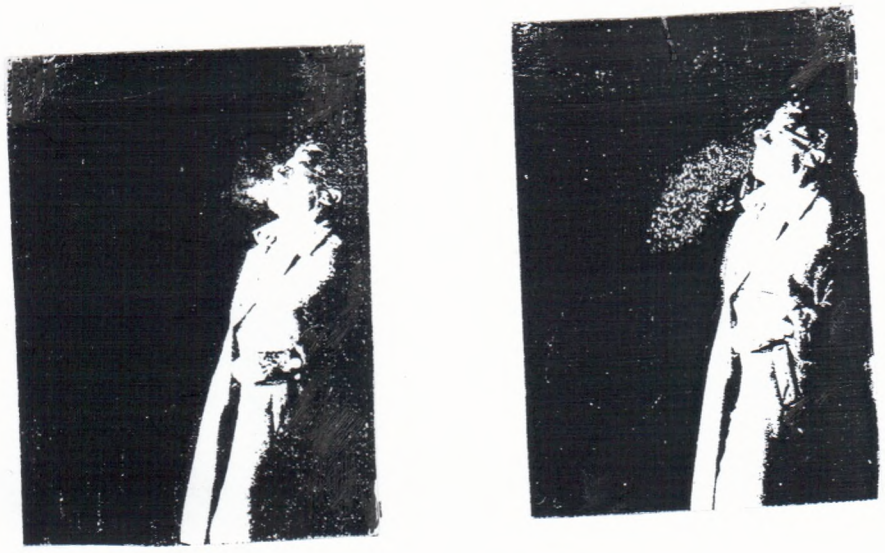

Рис. 11.8 Движение аэрозоля при чихании в падающем воздушном потоке от плафонного вентилятора (натурный эксперимент).

Разработка подобных «антиреспираторных» вентиляционных режимов, прерывающих аэрозольный механизм заражения, является ответственной инженерно-технической, санитарно-гигиенической и научной задачей, которая требует дальнейших серьёзных изысканий. На предприятиях микробиологической промышленности она частично решается, о чём свидетельствует инициированный нами монтаж подобной системы в цехах производства вакцин фирмы «Базальт».

Другим не менее важным следствием прицельного свойства является то, что аэрозольный механизм передачи не может быть эффективен в открытой атмосфере благодаря присущим ей ветровым течениям. Полученные нами аэродинамические характеристики экспираторных актов человека позволяют дать численную оценку снижения эффективности передачи аэрозоля в открытой атмосфере за счёт разнонаправленных воздушных потоков. Согласно проведенными нами расчётами, если в закрытых помещениях эффективность передачи принять за 100%, то в открытой атмосфере она снижается до 17%, (более чем в 5 раз).

Исследование аэродинамики аэрозольной передачи выявило основную причину поражённости человеческого сообщества инфекциями дыхательных путей – *капельные инфекции существовуют исключительно за счёт того, что человечество живёт в закрытых помещениях.* Не абстрактная «скученность» и даже не плохая вентиляция, не отсутствие инсоляции, витамина С и не простуда вызывают эпидемии т. наз. респираторных инфекций. Эти факторы, конечно, тоже играют некоторую роль, но они не оказывают прямого воздействия на аэрозольный механизм передачи. Основной фактор – отсутствие движения воздуха. Потому что *только движение воздуха способно нарушить передачу аэрозоля с той же быстротой и неотвратимостью, с какой реализуется этот процесс между источником и реципиентом инфекции.* Именно это

является основной причиной возникновения эпидемий респираторных инфекций в осеннее – зимний период, когда люди закрывают окна, сберегая тепло. Открытые окна и свободная циркуляция воздуха в летнее время является мощным фактором предотвращения эпидемий в летнее время. По-видимому, в истории человечества возникновение капельных инфекций произошло при переходе к обитанию в закрытых помещениях, с чем согласился Л.В.Громашевский[51]

Резюме

Аэрозольные, они же – капельные инфекции, существуют благодаря рижиму спокойной атмосферы в закрытых помещениях, к обитанию в которых человечество перешло, вероятно, на заре цивилизации. Ведущей причиной эпидемий респираторных инфекций в холодное, особенно, зимнее время, является режим спокойной атмосферы в закрытых помещениях, который устанавливается когда закрывают окна. Аэрозольный, он же капельный, механизм передачи обладает «прицельным свойством» состоящего в том, что если аэрозольный выброс не попадает в подносовую часть лица реципиента (зона захвата), то заражение не состоится. Аэрозольный механизм передачи может быть легко прерван за счёт введения в закрытых помещениях «антиреспираторного режима» приточно-вытяжной вентиляции, направленной сверху вниз.

Важные исследования задерживаются из-за того,

что в одной области неизвестны результаты,

уже давно ставшие классическими

в смежной области.

Норберт Винер

12. ОЧАГОВАЯ СТРУКТУРА ЭКСПИРАТОРНО-АЭРОЗОЛЬНОГО ОБЩЕНИЯ В ГОРОДАХ.

Для аэрозольных инфекций факторами и путями передачи являются не только экспираторные аэрозоли, но и условия обитания человеческих коллективов в системе закрытых помещений городов и сёл. В городах эту систему составляют жилища, городской транспорт, места общественного пользования, лечебные, зрелищные, церковные, учебные и рекреационные заведения. В сёлах таких помещений значительно меньше. Соответственно и эпидемии капельных инфекций менее интенсивны. Каждое помещение является местом, в котором его обитатели общаются не только в обычном смысле этого слова. Им присуще ещё *эпидемиологическое общение*, реализующееся даже тогда, когда все здоровы и нет эпидемии. Это общение состоит в том, что *люди выделяют и поглощают экспираторные аэрозоли.* Следовательно, в коллективе всегда существует *экспираторно-аэрозольный обмен,* интенсивность которого зависит от количества участвующих в нём человек и от устройства самого помещения (площади, формы, способов вентиляции, расстановки оборудования, мебели, габаритов, свободной площади, высоты потолков и пр.).

Время эпидемического взаимодействия при экспираторно-аэрозольном обмене

Рассмотрим помещение только с одного самого элементарного, но решающего параметра - *возможности выделять и поглощать аэрозоли* любым его обитателем. При чихании, как самом сильном экспираторном акте, любой обитатель *может* выбрасывать аэрозоль на дистанцию до 90 см при поперечнике облака 22 см и возможным поворотом головы влево и вправо. Это образует перед человеком зону потенциального заражения в виде сектора с центром экспирации в устах человека, краевыми радиусами r = 90 см слева и справа и углом между ними порядка120^0. В системе СИ площадь зоны (сектора) потенциального заражения (s) составит:

$$s = \pi r^2 \frac{120^0}{360^0} = 3{,}1415 \cdot 0{,}81 \frac{1}{3} = 0{,}8478 \ м^2$$

Остановим свой выбор на параметрах акта чихания, как максимальных и потому эпидемически наиболее значимых. Примем в расчёт, что в любом помещении площадью S может находиться N человек – потенциальных реципиентов аэрозоля. Их концентрация составит $N/S = P$. Тогда на одиночный сектор потенциального заражения каждого источника приходится $s\,P = 0{,}8478\ P$ реципиентов. Эта величина показывает, сколько реципиентов приходится на каждую зону (сектор) потенциального заражения. Такой показатель является численной мерой представления о «скученности» человеческого коллектива. Но эта мера скученности может определять потенциальную эпидемическую опасность помещения только в том случае, если её помножить на время пребывания данного коллектива в данном помещении. Тогда она становится эпидеметрической величиной – *временем эпидемического взаимодействия (далее – «ВрЭВ»):*

$$\tau = s\ P\ t = 0{,}848\ P\ t \qquad (31)$$

где: τ - *время эпидемического общения.*

Следует заметить, что время эпидемического общения вводилось нами в 10-й главе, где было записано в иной математической форме (29). Отличия (31) от (29) закономерны, так как обусловлены разными механизмами передачи

Размерность ВрЭВ в системе СИ выражается как *численность человеческого коллектива × число секунд общения.* Этот показатель характеризует не только помещение, но и вклад его обитателей в эпидемическое общение между ними. Он позволяет численно оценить потенциальный вклад обитателей помещения в распространение капельной инфекции, ещё до начала эпидемии и в межэпидемический период. Нужно только учесть, что «обитание» и «обитатели» помещения могут быть не только жильцами, но и посетителями, сотрудниками, служащими, рабочими, зрителями учащимися, пассажирами городского транспорта и т.д. То есть показатель времени эпидемического взаимодействия (ВрЭВ) является интегральной эпидемиологической характеристикой, охватывающей практически всё то, что может способствовать развитию эпидемического процесса.

Время эпидемического взаимодействия будет возрастать при уменьшении площади помещения и увеличении числа «обитающих» в нём лиц. Возрастанию будет также способствовать время пребывания - t. Сокращению времени эпидемического взаимодействия будет содействовать уменьшение числа «обитателей» и увеличение свободной площади, так как будет уменьшаться параметр - P. Ещё больший эффект может достигаться введением антиреспираторной системы вентиляции с падающим воздушным потоком, так как отклонение экспираторного аэрозоля вниз равнозначно уменьшению численного значения s. И чем меньше будет это значение, тем меньше будет время эпидемического взаимодействия - τ.

Иллюстрацией сказанному могут служить ориентировочные расчёты времени эпидемического взаимодействия в помещениях, присущих городскому образу жизни, которые приведены в табл. 12.1. Интерес может представлять ретроспективный расчёт отошедших в историю Универсамов 80-х годов с их вечными очередями за отдельными видами товаров. В 1-й и 2-й строке показаны значения времени эпидемического взаимодействия (ВрЭВ) для помещения торгового зала площадью 1000 квадратных метров и отдельно – очереди. Конечно, и так понятно, что в очереди заразиться легче, чем в торговом зале, но из таблицы следует, что это почти в 7 раз вероятнее. Существенно то, что ВрЭВ для локального группирования людей легко может быть числено оценено. Впечатляет результат расчёта ВрЭВ для небольшого магазинчика типа бутика. Его вклад в экспираторно-аэрозольный обмен просто ничтожен (22.5 секунды).

Строки от 3 до 5 посвящены городскому транспорту. Из них следует, что наибольший «вклад» в экспираторно-аэрозольный обмен вносят большие автобусы и такие же троллейбусы. Наряду этим, тесные микроавтобусы за счёт относительно большего числа сидячих мест и более быстрой доставки пассажиров, представляют меньшую опасность, чем большие автобусы. Ну и, конечно, индивидуальные легковушки и такси наименее опасны в смысле аэрозольного обмена.

Данные таблицы показывают, что наибольший вклад в экспираторно-аэрозольный обмен осуществляют тесные производственные помещения, учебные помещения, места общественного пользования – театры, лекционные залы, помещения церквей. Жилище горожанина тоже имеет достаточно высокий уровень экспираторно-аэрозольного обмена, главным образом за счёт длительности общения в семье, особенно у телевизора (если он один) и в общей спальне (см. поз.10, 11,12).

Данные расчёта τ^*, отражённые в правом крайнем столбце, показывают, что если создавать в помещениях антиреспираторный режим вентиляции (сверху вниз) то значения ВрЭВ могут быть снижены более чем в10 раз. Нужно особо отметить, что расчёты, приведенные в таблице, пока не могут прямо использоваться для принятия каких бы то ни было санитарно-гигиенических норм. Все эти расчёты имеют ориентировочный характер. Потребуется дальнейшие исследования, чтобы довести их до нормативного уровня.

Приведенные расчёты показывают, что время эпидемического взаимодействия является реальным инструментом эпидемического надзора, позволяющим строить противоэпидемические мероприятия на твёрдой научной основе, а не произвольных допущениях, как это бывает в настоящее время. С помощью этого инструмента можно воссоздавать (то есть моделировать) экспираторно-аэрозольный обмен в городах минувших эпох, если нужно, даже в Геркулануме и Помпее. Но гораздо важнее то, что если учитывать ВрЭВ в проектах городов, жилых зданий, лечебных и учебных заведений, казарм, боевых и пассажирских кораблей, и любых других закрытых помещений, то в конечном итоге это создаст условия, препятствующие эпидемическому распространению респираторных инфекций.

Инфраструктура экспираторно-аэрозольного общения городов

Город, посёлок, село необходимо рассматривать как систему очагов экспираторно-аэрозольного общения. А в любой системе необходимо выделить её простейшие элементы. Тогда структуру системы можно представить в форме конфигурации элементов. В нашем случае, такой элементарной структурой является помещение, в котором его обитатели равновероятно общаются друг с другом. Подобное помещение

является «элементарным очагом» экспираторно-аэрозольного общения. Элементарными очагами являются квартиры, офисные комнаты, отдельные классные комнаты школ и высших учебных заведений, отдельные цехи промышленных предприятий.

Табл. 12.1

Ориентировочные значения τ, а также τ^*(в условиях антиреспираторной вентиляции)

Вид помещения	Число лиц N	Площадь S ($м^2$)	Плотность P= N/S (лиц на $м^2$)	Время Общения t (сек)	Время эпид. взаимодействия τ (сек)	Время эпид. взаимодействия τ^*(сек)
1. Магазин типа Универсама 80-х годов	300	1000	0,3	2700	686,8	27,4
2. Очередь в Универсаме	33	10	3,3	1800	5036,5	200,8
Современный Бутик	3	30	0,1	300	25,38	10,1
3.Современный городской автобус	140	35	4	1200	4069,8	162,8
4. Микроавтобус	20	10	2	1000	1695,4	67,7
5. Такси, личный Автомобиль	2	1,8	1,1	1000	932,7	37
6. Работа в помещении	5	20	0,25	28 800	1422,4	56,8
7. Лекция в учебном Заведении	1	0,7	1,43	18000	21828	873
8. Перемена	1	2	0,5	900	381,6	15
9. Театр, кино,церковь	1	0,7	1,43	27000	32742	1309,6
10. Квартира	3	60	0,05	36 000	1526	61
11. Время у телевизора	3	5	0,6	10800	5495	219,7
12. Сон в общей спльне	3	12	0,25	28 800	6105,8	244,2

Элементарные очаги в учебных, лечебных, крупных офисных и производственных учреждениях и предприятиях образуют комплексы. В них общение между элементарными очагами неравновероятно. Поэтому они составляют другой более сложный уровень очаговой организации, который нами классифицируется как «очаговые пакеты».

Салоны городского транспорта, торговые залы супермаркетов, киноконцертные залы, аудитории и залы богослужебных учреждений являются местами, где встречаются и контактируют обитатели элементарных очагов и очаговых пакетов. В них, в случае эпидемии, происходит передача инфекции между множеством элементарных очагов и очаговых пакетов. Можно сказать, что они выполняют функцию «биржи» капельных инфекций, та как превращают единичные случаи инфекции в общегородскую эпидемию. Эту категорию мест межочагового общения мы предлагаем именовать «узлами».

Введение приведенных трёх уровней экспираторно-аэрозольного общения позволяет любой населённый пункт представлять в виде структуры, составленной из элементарных очагов, очаговых пакетов и узлов. Если службы санитарно-эпидемиологического надзора, кроме созерцания, будут наделены знаниями, изложенными в 11-й и 12-йглаве, а также некоторыми властными полномочиями, они смогут корректировать инфраструктуру городов. Для этого они должны будут учитывать насыщенность городов «узлами», структуру общения в «очаговых пакетах» состояние вентиляции, организацию рабочих мест «элементарных очагов» экспираторно-аэрозольного обмена, и обеспечивать множество других мероприятий, направленных на сокращение ВрЭВ. Предложенные нами «точные» подходы, позволяют решать задачу на моделях. А моделирование необходимо не только для оценки существующего санитарно-эпидемиологического состояния города, но и для оценки будущего, как близкого, так и отдалённого. Покажем это на искусственном объекте - модели города Х. Зададимся следующими характеристиками города Х, которые назовём его «паспортом» (см. табл. 12.2):

Таблица 12.2

Паспорт города Х

Население - 3000 чел.

Число квартир – 1000.

Средняя численность семьи – 3 чел.

Детей школьного возраста – 1000 чел.

Школа на 1000 чел., классов – 20, в классе по 50 учеников, площадь класса 100 кв. м.

Магазин типа «Универсам» – один, площадь торгового зала – 1000 кв. м

Транспорт – современные городские автобусы на 150 пассажиров. Время в пути – 30 мин.

Работа – цехи по 20 кв. м. на 5 человек.

Зрительный зал на 200 посадочных мест.

Воспользовавшись формулой (31) и данными приведенными таблице 12.1, можно рассчитать для города Х значения ВрЭВ (см. табл. 12.3, второй столбец). В нижней строке таблицы приведено суммарное значение ВрЭВ составившее Т = 85 840 сек.

Теперь смоделируем небольшую «реконструкцию» города X. Пусть вместо Универсама с очередями советских времён, в городе будут открыты 3 небольших магазина без очередей. Вместо больших автобусов на 150 человек и временем пути 30 минут будут запущены микроавтобусы со временем пути 16,6 минут.. В таблице 12.3 результаты «реконструкции» представлены в 3-м столбце.

Таблица 12.3

Значения ВрЭВ до и после реконструкции. Значения ВрЭВ после введения антиреспираторной системы вентиляции.

Элементарные очаги, очаговые пакеты и узлы города X	До реконструкции τ (сек.)	После реконструкции τ (сек.)	После введения антиреспираторной системы вентиляции τ^* (сек.)
1	2	3	4
Магазины	6 300	90	3,6
Транспорт	3 600	609	20
Работа	14 400	14 400	570
Школа	25 700	25 700	1028
Театр, кино, зрительный зал	15 840	15 840	633,6
Квартира	21 000	21 000	840
СУММАРНОЕ ВрЭВ (Т)	85 840	77 639	3 095,2

Суммарное значение ВрЭВ заметно уменьшилось и составило Т= 77 639.

Если повсеместно ввести ещё «антиреспираторную» систему вентиляции, расмотренную в конце 11-й главы, то результат будет радикальным - значение τ^* снизится до 3095,2, что на много меньше, чем это было до «реконструкции».

Приведенные численные примеры, как и сам город X, имеют чисто модельный характер. Но именно по этой причине проведенные расчеты демонстрируют их реальность и значимость. А это означает, что органы, отвечающие за эпидемическую безопасность населения в Украине, и любой иной стране, получают метод, позволяющий оценивать реальное санитарно-эпидемиологическое состояние любого города или населённого пункта, любого закрытого или открытого коллектива, любого очага, в части его возможного вклада в распространение аэрозольных инфекций. Это очень важно, так как там где вклад численно оценён, там легче выработать противоэпидемические мероприятия и другие механизмы противодействия инфекции. Но в их основе лежит моделирование либо аналоговое, которое было применено в случае «города X», либо математическое, в том числе компьютерное, разрабатывавшееся в течение первой

половины XX столетия и известное под именем «математической эпидемиологии» [19,20,23,24,25,26,27,35,44,45,46,48.].

Подводя итоги, мы с уверенностью можем утверждать, что существование многочисленной когорты биопатогенных возбудителей аэрозольных (капельных) инфекций, обусловлено не «лёгкостью» механизма передачи, а противоестественными условиями обитания человечества в закрытых помещениях. Аэрозольный механизм передачи имеет свою «Ахиллесову пяту» - воздушные течения. Достаточно в помещениях нарушить вездесущий режим спокойной атмосферы и привести её в гигиенически нормированное движение, чтобы поставить взбудителей респираторных инфекций на грань вымирания. Вторым подспорьем в этой работе является коррекция сложившейся планировки городов, с целью уменьшения количества «узлов» и особенно введения в них «антиреспираторого» режима вентиляции. Возможно, с этого нужно начинать. Но самым главным условием борьбы с аэрозольными инфекциями является дальнейшее углубление и перепроверка тех, в общем, сугубо ориентировочных, данных, которые отражают пионерские исследования, изложенные в предыдущей 11 и данной 12 главе. Будут, соответствующие исследования проводится или нет - судить не нам. Но без моделирования им не обойтись.

Резюме

Обосновывается новое понятие «аэрозольно-респираторного» общения или обмена предсуществующего развитию вспышек респираторных инфекций. Вводится численный критерий его оценки – ВрЭВ (время эпидемического взаимодействия). На его основе исследуется городской образ жизни и предлагается способ аналогового моделирования при проектировании и коррекции жизнеустройства городов. Основной вывод – с учётом полученных данных возбудители аэрозольных инфекций могут быть поставлены на грань вымирания.

Англичане обладают удивительной способностью, сделав открытие, развивать его дальше, чтобы сделать следующее открытие или технологию. Поэтому они превосходят нас.

И.В. Гёте

НАЧАЛО ВМЕСТО ЭПИЛОГА

(эссе)

Дворцовое здание Киевского института эпидемиологии и микробиологии украшал великолепный вестибюль с Т – образным лестничным маршем и памятными беломраморными досками с заглублёнными золотыми надписями. Из них следовало, что Институт был основан в честь вступлеия на престол Его величества Императора Николая второго и был построен и сдан в эксплоатацию всего за 6 месяцев (от фундамента до цветного витражного потолка) со стильной мебелью, конюшнями и прочими службами. В

центре над разветвлением на левый и правый марши, на колонном постаменте стоял тёмной бронзы бюст основателя научной микробиологии Луи Пастера. Левый марш вёл к дверям Конференц-зала, Библиотеки и Лаборатории микробиологии, где я к тому времени проработал уже 10 лет.

Чтобы пройти к себе, нужно было пересечь препараторскую, зайти в продолговатый коридор, в котором стояла насосная группа, обслуживавшая мою аэрозольную установку. Затем ещё один коридор, по правой стене которого остроконечными волнами на крюках были подвешены шланги высокого и низкого давления. Мне уже было известно, что меня ожидает кто-то из Москвы. К посетителям я привык – часто ездили любопытствующие «аэрозольщики» Советского Союза поглядеть на мою собственноручно сделанную установку с регулируемым микроклиматом, счётчиками частиц и пр. Ездили, чтобы кое-что выведать насчёт системы безопасности, стерилизации выхлопа, бактериоуловителей и так далее. В шутку мы называли установку «лизеттой». Открыв дверь в переполненную светом лабораторию (6 окон на 20 квадратных метров) я увидел приподнимающегося со стула светловолосого молодого мужчину. Он представился. Леонид Рвачёв из Института имени Ивановского, приехал ознакомиться с вашей (нашей) моделью математического моделирования эпидемий гриппа.

Рис. 12.1 Вестибюль «Пастеровского корпуса». Справа – аэрозольная установка КИЭМ-5, в шутку называемая «лизеттой»

Он явно нервничал. До сих пор помню, как у него дрожали губы. Как экс-психиатр такие мелочи я ловил на лету. Причины для волнения у Леонида Алексеевича были не шуточные. Он получил секретное правительственное задание создать компьютерную модель движения заболеваемости гриппом по территории СССР и в городе Москве. У него в Институте была установлена вторая в СССР ламповая электронная вычислительная машина (ЭВМ «Урал»). Задание преследовало оборонные цели на случай бактериологической войны. Работа была далека от успеха и завершения. И тут вдруг в Киеве появляется печатная статья некоего В.Жалко-Титаренко, Г.Шайхета и М.В.Товбина и Е.М.Ройтмана, в которой задача решается с помощью простенькой формулы из теории цепных реакций нобелевского лауреата Н.Семёнова, а вычисления ведутся с помощью логарифмической линейки!

Леонид Алексеевич основывался на созданной к тому времен компьютерной модели пассажирооборота на территории СССР. С помощью этой модели он намеревался смоделировать распространение гриппа по всей огромной территории Союза. Математически это было вполне возможно, если суметь описать мешанину контактов и заражений в разных городах и рассчитать воспроизводство вируса при разных клинических формах. Это как минимум. Все эти дополнения на самом деле были на много серьёзнее, и их было значительно больше, чем в замысле тематики Леонида Алексеевича. Сам замысел был построен на индуктции, то есть от частного (пассажирооборот) к общему (распространение гриппозной инфекции). Перейти от пассажирооборта к мешанине и хаосу человеческих общений, лежащих в основе эпидемии, было нереально. Провальность идеи бросалась в глаза. Об этом я ему тут же сообщил. Он не только с этим согласился, но и признался, что не знает как ему избавиться от этого задания.

Наша («украинская») модель, была построена на противоположном подходе. Мы ничего заранее не определяли. Наша идея заключалась в том, чтобы по параметрам динамики эпидемии первой недели, рассчитать её дальнейшее развитие, скорость процесса, ожидаемый уровень заболеваемости и дату окончания. Подход имел дедуктивный характер (от общего к частному), потому что вся мешанина эпидемии отражалась всего лишь в числах ежедневной заболеваемости. Математическая запись такого подхода и соответствующие параметры аналогичны уравнению, приведенному в разделе 1.4. Час – два расчётов и уже в конце понедельника следующей недели прогноз численного развития эпидемии был готов. Как правило, 2 последующие недели он совпадал с реальностью, но далее начинались расхождения. Поэтому к концу третей - четвёртой недели мы использовали обновлённые статистические данные, пересчитывали все параметры и давали окончательный прогноз до конца эпидемии на месяц вперёд.

Нервничать Леониду Алексеевичу было от чего. Когда мы впервые выдали прогноз в наше родное министерство, телеграфное ведомство УССР – «РАТАУ», сообщило, что «киевские учёные» впервые в мире смоделировали и спрогнозировали эпидемию гриппа. За сим последовало сообщение телеграфного агенства ТАСС, что «советские учёные» спрогнозировали и смоделировали эпидемию гриппа и тоже «впервые в мире». Вечером того же дня об этом сообщил «Голос Америки». Нам стало немножко непосебе, так как даже в послесталинские времена за такое могли посадить. Но обошлось.

Убедившись, что мы идём своим путём и не представляем для Леонида Алексеевича конкуренции, он успокоился и предложил проводить совместные исследования. Позже нашу модель он опробует на примере Москвы, но будто бы она хорошо работала только на подъёме заболеваемости, а на спаде давала укороченные

данные. Я объяснял это результатом мегаполисности. В зародыше то же самое имело место и в Киеве – мы ведь недаром в конце второй - третьей недели эпидемии проводили корректировку прогноза. На основе нашей модели была защищена кандидатская диссертация одним из аспирантов Леонида Алексеевича.

Я воспользовался приглашением своего нового знакомого, съездил в Москву, увидел собственными глазами громадный белый зал с кондиционированным воздухом, в котором располагались многочисленные темно-серые ламповые и катушечные (с перфолентами) устройства ЭВМ «Урал». Небольшой круг математиков, с которыми меня познакомил Леонид Алексеевич, позволил понять, что такое математический снобизм и как он далёк от реальной сущности эпидемического процесса. Они с шиком сыпали названиями математических подходов, с помощью которых, по их мнению, нужно было формулировать модель эпидемического процесса. Наша модель была для них запредельно проста. Что-то вроде 2+2=4.

Но прогнозы-то делали мы, а у них дело пока совсем не шло. И это понятно почему. Наши математические подходы соответствовали уровню той информации, которая поступала от служб органов здравоохранения. Это была информация о численном нарастании случаев гриппа по дням. Не больше и не меньше. А для моделей, развитых группой Л.А.Рвачёва требовалась, выходящая за рамки доступности, информация, которую негде было взять. И её приходилось домысливать, машине и человеку. Если бы существовала и развивалась теоретическая эпидемиология, сочетающая эксперимент, наблюдение с их моделированием, вклад Л.А.Рвачёва был бы неоценим. Увы, этого не было ни тогда, нет этого и поныне.

Не без здорового азарта, я задумал решить проблему Л.А. Рвачёва своим дедуктивным подходом. Для этого нам были необходимы данные о движении заболеваемости гриппом по территории страны и данные о социометрических показателях каждого региона. Но в СССР, из-за всеобщей засекреченности, такая информация была доступна только группе Л.А.Рвачёва, и, следовательно, недоступна для нас. Выручила информация ВООЗ, опубликовавшая данные о движении заболеваемости гриппом по территории США в 1969-м году. Информация не очень нас устраивала, так как содержала разовые данные о захвате эпидемией целых штатов. Нам более подходила бы информация о последовательном возникновении, численном развитии и окончании эпидемии по городам. К сожалению, таких данных не было.

Кроме статистики заболеваемости нужен был и радикально иной подход к моделированию. Нам нужно было решать обратную задачу – взять наиболее общую характеристику населения штатов и на такой основе показать, как будет развиваться эпидемия по территории страны. Такой характеристикой была плотность населения, то есть количество людей на квадратный километр территории штата. Плотность населения - показатель, который ассимилирует множество эпидемиологически значимых особенностей. В нём отражается численность городов и городского населения, присущие штату пассажирообороты, а также жизненный уклад и занятость. Чтобы убедиться в том, что на динамику распространения гриппа в первую очередь влияет плотность населения, мы прибегли к электромоделированию на электропроводной бумаге, успешно применявшемся в Институте математики Академии Наук Украины.

Математическую теорию и метод моделирования разработал и осуществил Э.П.Гранкин и И.П.Малинский [23,24]. Пропорционально плотности населения были подобраны сорта электропроводной бумаги. Из подобраных сортов был склеен макет карты Соединённых штатов Америки. В соответствии с разработанными математическими критериями, к «штату» Калифорния был подключён электрический

потенциал, поскольку с этой территории началось движение эпидемии на восток страны. С помощью других электроприборов была зарегистрирована волна движения потенциала, которая отражала в «нашем измерении» фронт движения эпидемии гриппа. Результат подтвердил наши ожидания (см. рис.12.3). Задача, которую индуктивным методом так сложно было решать группе Л.А.Рвачёва, оказалось значительно проще решить на основе интегрального показателя – плотности населения.

Накопив более подробную информацию о движении эпидемии по территории США можно было бы настолько усовершенствовать нашу модель, что при возникновении вспышки гриппа в любом регионе, прогнозировать дальнейшее распространение инфекции для всей страны. И не только. Динамика эпидемии гриппа

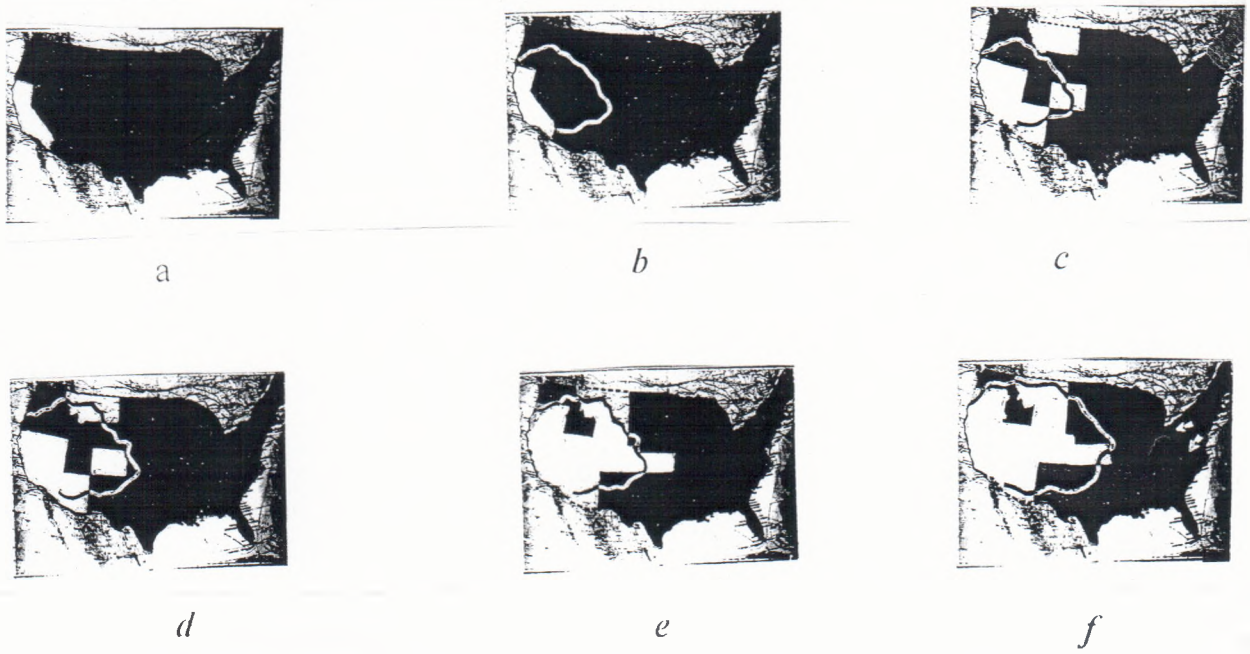

Рис. 12.3. Результаты электромоделирования движения заболеваемости гриппом по территории США в 1969 году. Чёрным цветом отмечены штаты, в которых ещё нет эпидемии (электропроводная бумага была чёрного цвета). Белым – штаты захваченные эпидемией, белая линия – движение эпидемического фронта: a - эпидемия охватила штат Калифорнию, b – фронт движения заболеваемости далеко ушёл на восток, c – позади (западнее) фронта эпидемия охватила штаты Аризону, Неваду, Колорадо и Монтана, d – дальнейшее продвижение фронта заболеваемости на восток, e – эпидемия охватила штаты Вайоминг, Юта и Канзас, f- линия фронта продвинулась далее на восток, охватив штаты Северная и Южная Дакота, Оклахома и ряд других. В это время началась эпидемия на северо-востоке США, откуда новая волна эпидемии гриппа устремилась на восток на встречу «калифорнийской» волне, что не было предусмотрено моделью.

позволяет оценить скрытые параметры общения по капельным инфекциям и на этой основе *моделировать эпидемии респираторных инфекций любой иной этиологии*. В том числе – эмерджентных [54]. Но эта возможность пока остаётся нереализованной. Сакраментальный вопрос – почему? Он связан также с вопросом – а зачем, и кому это нужно? И более детально – какая практическая польза будет от немалых затрат на содержание научных работников, научных учреждений, затрат на оборудоваие, печатание статей и трудов по прогнозированию эпидемий? Ответов на такой вопрос два.

Во-первых, прогнозирование выявляет множество важных, но не изученных, вопросов эпидемического надзора, решение которых способно усовершенствовать стратегию и тактику противоэпидемических мероприятий, хотя бы таких, какие вытекают из материалов, изложенных в предыдущих главах.

Во-вторых, прогнозирование – результат практического применения теории эпидемического процесса. А теория эпидемического процесса (как и любая теория в иных областях) является моделью реальных событий и явлений. Теория – признак развитой науки, которая всегда была автохтонным человеческим творчеством. Тем, что построило современную цивилизацию от пуговицы до космических кораблей. Автохтонность науки состоит в том, что не каждое из её постижений должно немедленно оправдываться практикой, как это до сих пор считают многие ограниченные умы. Автохтонность науки состоит ещё в том, что она сама знает, куда и как ей следует развиваться, какие очередные задачи решать. Она не нуждается ни в каких внешних вмешательствах, руководящих указаниях и претензиях. Для этого в науке существует своя внутренняя борьба мнений, научных гипотез, теорий и школ.

Когда основателя электродинамики, М. Фарадея, спросили – какое практическое значение имеют его опыты по электромагнитной индукции, он ответил исчерпывающе точно. «А какое практическое значение имеет новорожденный младенец?». Ведь новорожденного мы кормим, воспитываем, обучаем, содержим лет до 20, и лишь потом он начинает приносить пользу обществу и семье. В свете ответа, данного М.Фарадеем, критерий прикладной значимости смертелен для науки. Но это отнюдь не значит, что научные работники не должны избегать внедрения научных достижений в практику. Наоборот – чем обширнее научные знания, тем весомее их применение в практике. «Нет ничего практичнее хорошей теории» - афоризм, который приписывают академику Л.А.Арцимовичу. Наш личный опыт может это только подтвердить.

Но что такое «хорошая теория»? Ответ на такой вопрос не прост. В первом приближении, он освещён в теории предестинантных (сотворённых) систем [52]. Каждая «хорошая» теория, должна: 1) описывать, 2) объяснять, 3) воспроизводить (т.е. моделировать), и 4) предсказывать неизвестные факты, присущие объекту. «Хорошая теория», как и подлинно научный труд, должен подтверждать, или отрицать существующие научные положения или теории, либо предлагать свои. Труд, посвящённый накоплению фактов без определённого научного предназначения, не может считаться «научным». Такой труд для науки вреден, хотя может быть полезен для практики. Вредность его для науки определяется тем, что в информатике именуется «шумом» - хаотичным накоплением фактов, мешающим прохождению «полезного сигнала», (в нашем случае - полезной идее).

Таким образом, ответ на сакраментальные вопросы – зачем, и кому это нужно?- один. Это нужно для защиты человечества от инфекций.

Приблизившись к последним строкам «Эпидинамики» автор должен, в конце концов, пояснить – почему последняя глава названа «Начало вместо эпилога». Прежде всего, потому, что всё вошедшее в Эпидинамику является началом, а не конечным результатом. Ведь не зря блестящий скептик Б.Шоу сказал: «Наука всегда оказывается неправа. Она никогда не решает вопроса, не поставив при этом десятка новых». Началом было применение теории цепных реакций в эпидемиологии, затем в кинетике микробного роста, в развитии инфекционного процесса, и цепи тканевых популяционных циклов. Началом было применение человеческих кишечников для моделирования локальных инфекционных явлений. Настанет время, когда человеческий материал будет поступать не от людей, а от искусственно выращенных органов. Началом была теория инфекционной дозы и теория инфектонов. Благодаря этим постижениям, экспериментатор

приблизит свои исследования к объективной реальности. Началом была система уравнений, воспроизводящая инфекционный процесс, антибиотикотерапию, развитие резистентности и эффективность антимикробного иммунного ответа. Настанет время и за эту, пока лишь каноническую модель, возьмутся содружества математиков и экспериментаторов. Потому, что так должно быть и так было, когда модель только складывалась. Именно содружество математиков и экспериментаторов породило современную науку, а наука – цивилизацию. Настанет время, когда по движению фронта заболеваемости гриппом будут выявляться наиболее неблагополучные населённые пункты, транспортные артерии и города, и в их жизнеустройство будут вноситься коррективы, отраженные в 11 и 12 главе. Настанет время, когда устройство жилищ, производственных помещений, транспортных средств и мест общественного пользования будут подчиняться законам аэродинамики экспираторно-аэрозольного общения и антиреспираторным режимам вентиляции. А градостроительство будет учитывать нормы антиреспираторной противоэпидемической стратегии, разработка которых ещё предстоит.

Ответ состоит ещё в том, что «Начало» описывает эпизоды и свершения, которые инициировали направление исследований автора и завершились созданием Эпидинамики. Но и это ещё не всё. Существует ещё один личный мотив, побудивший назвать это эссе «Началом». Он сотоит в том, что «Начало» состоялось в бывшем Дворце Науки – Пастеровском корпусе, моей Alma mater, моего Института, вестибюль которого отображен на рис.12.1. Не ручаюсь, что Пастеровский корпус не будет разрушен в ближайшее время современными вандалами. Ибо они уже начали свою чёрную работу внутри.

Во всяком случае, автор полагает, что с его стороны не будет слишком большой дерзостью закончить свой труд древним латинским изречением: faeci, quod potui - faciant meliora potentes!

Этим «meliora potentes» автор посвящает свой труд.

Благодарности

Выражаю признательность руководству Института эпидемиологии и инфекционных болезней им. акад. Л.В.Громашевского директору В.И.Задорожной, добросердечному коллективу лаборатории общей микробиологии и дезинфектологии. Благодарю своих требовательных и взыскательных оппонентов и рецензентов – академика В.П.Широбокова, профессоров А.М.Зарицкого и М.М.Колесникова. Но самой горячей благодарности заслуживают члены моей Семьи за долготерпение, заботливость и любовь – жена Инна Владимировна Жалко-Титаренко, сыновья - Владимир и Иван. Благодарю также своего первенца сына Андрея, в постоянных дискуссиях, с которым, формировался его интеллект физика-теоретика и мой собственный точный подход к микробиологии и эпидемиологии.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Салманов А.Г., В.Ф.Марієвський, В.В.Бойко. Антибіотикорезистентність в хірургії.- Харків- НТМТ – 2012.

2.Николаев Ю.А., В.А.Плакунов. Биоплёнка – «город микробов» или аналог многоклеточного организма?// Микробиология-2007-т.76-№2- с.149-163

3.Овнакян К.О., А.А.Трчунян. Ультраструктурная архитектоника межклеточных контактов в биоплёнках бактерий *in vitro* и *in vivo*.// Национальная академия наук Армении. Доклады. - 109, - 2009, № 1 - С. 78-83

4. Donlan R.M. Biofilms: Survival Mechanisms of Clinicaly Relevant Microorganisms / R.M. Donlan, J.W. Costerton//CLIN. MIC. REV.- 2002- Vol.15-No.2- P.167-193.

5.Жалко-Титаренко В.П., Григорьев А.В. Рыбалко С.Л. О начальном этапе развития популяции возбудителя в организме.// Труды украинского съезда об-ва микробиологов.- Донецк. !984.

6. Жалко-Титаренко В.П. Поведение популяции шигелл в процессе заражения.// В кн.: Физико-химические исследования патогенных бактерий в процессе культивирования. Иваново. 1985.- С.19-27.

7 Бондаренко В.М., Жалко-Титаренко В.П., Григорьев А.В. и соавт. Характеристика тканевого популяционного цикла шигелл // Журн. микробиол.,1986. №5.- С.29-32.

8. Покровский В.И., Бондаренко В.М., Жалко-Титаренко В.П. Рост и развитие популяции возбудителей в процессе заражения.// Сов. Медицина – 1987-№4-С.29-38.

9. Бондаренко В.М., В.П. Жалко-Титаренко. Популяционные аспекты взаимодействия шигелл со слизистой оболочкой эксплантированых фрагментов кишечника плода человека. //Вестник Академиии медицинских наук СССР.-1986-№12-С.72-78.

10 Дюбо Р. Биохимические факторы в микробных заболеваниях. Изд-во Иностр. л-ры. М. 1957. 180 с.

11. Люта В.А. О.В.Кононов. Мікробіологія. – Київ-Медицина-2008-454 с.

12. Фролов А.Ф., А.М.Зарицкий, Ю.М. Фельдман Новые принципы и критерии оценки патогенных и условно патогенных микроорганизмов. // VI съезд Украинского микробиол. об-ва. Тезисы докл. –Донецк-1984-ч.2-Киев-Наукова думка-С.100.

13. Жалко-Титаренко В.П. Популяционные критерии патогенности и условной патогенности // Тезисы докладов XI республиканского съезда микробиологов. эпидмилогов и паразитологов .Одесса - !985 – Киев – ч.11 – С.7 -8.

14. Monod J. Recherches sur la croisance des cultures bacteriens. Pa ris – 1942-210 p.

15. Monod J. The growth of bacterial cultures // Amer. Rev. of microbiol.- 1949 – 3 – p.371-394

16. Покровский В.И. Н.Б. Шалыгина. К вопрорсу об инвазии шигелл в кишечный эпителий и роль этого явления в патогенезе дизентерии// Журн. микробиол.-1973-№11-С.102-106

17.Шалыгина Н.Б. Морфология поражения кишечника у больных острой бактериальной дизентерией// Материалы научной конференции «Кишечнык инфекции».- Кив-1972.- С.156-159.

18. Жалко-Титаренко В.П. К морфологической и биофизической характеристике диссеминации инфекции в покровном эпителии // X украинский республиканский съезд микробиологов, эпидемиологов и паразитологов. Тезисы докладов – Киев 1980 – С.187-188.

19. Жалко-Титаренко В.П., О.В. Григор'єв, Л.Г.Купчинський. Розвиток уявлень про стикову ланку інфекційного та епідемічного процесів. Теорія інфектонів.// Інфекційні хвороби.-№2 -1996-С.40-44.

18. Семёнов Н.Н. Развитие теории цепных реакций и теплового воспламенения.- М. Знание-1969.-95 с.

19.Жалко-Титаренко В.П., Г.Х.Шайхет, М.В.Товбин, Е.М.Ройтман. Применение теории цепных реакций для описания развития эпидемий гриппа// Врачебное дело.1968. №6 – С.119-121.

20. Шайхет Г.Х., В.П.Жалко-Титаренко, М.В.Товбин, Е.М.Ройтман. Применение теории цепных реакций для прогнозирования эпидемий гриппа // Врачебное дело, 1968. №12- С.107-109.

21. Фаворова Л.А. Об интенсивности перелачи дифтерийной инфекции от клинически здоровых носителей. Сообщ. 3.// Журн. микробиол. – 1965.- №5.- С. 47-50.

22. Фаворова Л.А., Г.Г.Ежева, Костюкова Н.Н.,Буслаев И.М., Малахова В.С. О роли разных источников инфекции дыхательных путей в закрытых детских коллективах (на модели дифтерийной инфекции). Сообщ. 2. // Журн. микробиол.- 1964.-№12.- С.14-19.

23. Бейли Н. Математика в биологии и медицине. Изд-во «Мир» М.1970 (перевод с английского)

24. Ханин М.А. и Л.И.Элькин. Математическая модель популяции микобактерий – М. Наука.-1976.- 150 С.

25. Бароян О.В., Л.А.Рвачёв. Детерминированные модели для территории с транспортной сетью // Кибернетика.-1967.-№3-С.67-74.

26. Бароян О.В., Л.А.Рвачёв, Ю.Г.Иванников. Моделирование и прогнозирование эпидемий грипа на территории СССР – М.: ИЭМ им. Гамалеи. 1977.- 546 с.

27. Романовский Ю.М., Н.В.Степанова, Д.С.Чернавский. Математическая биофизика.- М. Наука.- 1984.- 304 с.

28. Ждан-Пушкина С.М. Основы роста культур микроорганизмов-.Издательство ленинградского университета- 1983-185 с.

29. Печуркин Н.С. Популяционная микробиология.- Новосибирск- 1978 – 275 с.

30. Жалко-Титаренко В.П. Популяція збудника в інфекційному та епідемічному процесі //Вчення Л.В.Громашевського на сучасному етапі розвитку епідемічного процесу (до 120 річчя від дня народження) – Київ – 2007- С.91-101.

31 Жалко-Титаренко В.П. Аналіз стану сучасної фундаментальної епідеміології// Памяті Л.В.Громшевського – Київ-2002-С.60-64.

32. Великанов И.М.(ред.) Руководство по микробиологии и эпидеитологиию-ГИЗ-Москва – Ленинград-1937-912 с.

33. Брилис В.И. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов.// Лаб. дело – 1986-№4-С.210-212.

34. Романова Ю.М., А.Л. Гинцбург. Бактериальные биоплёнки как естественная форма существования бактерий в окружающей среде.// Журн. Микробиол.-2011- №3- С. 99-109.

35. Жалко-Титаренко В.П. Элементы математической эпидемиологии.//К.М.Синяк (ред.) Эпидемиология вирусных инфекций – Киев – Здоров'я-1984- С.54-61.

36. Горегляд Н.И., Шиманский О.В., Жалко-Титаренко, Пономарёва Г.Е., Панова В.Н. Шатило В.А. К вопросу об оценке действительной пораженности населения дизентерийной инфекцией Зонне//Тез. Докладов научно-практической конференции по актуальным проблемам кишечных инфекций,- ДСП, -Киев-1978- С. 29-31.

37. Пономарёва Г.Е., Горегляд Н.И., Жалко-Титаренко В.П. и соавт. К методике оценки поражённости населения возбудителем дизентерии Зонне.// Клиника, патогенез и лечение дизентерии.- Изд-во Саратовского университета – Саратов-1979-С.61-63.

38. Пономарёва Г.Е., Шиманский О.В., Жалко-Титаренко В.П. и соавт. Об оценке времени эпидемического взаимодействия// Кишчные инфекции – Киев-Здоровье-1976- Вып.8 - С.

39. Duguide.J.P. The Size and the Duration of Air Carriage of Respiratory Droplets and Droplets Nuclei.// J. Hyg.,1946,44, 6,p. 471-479.

40. Фукс Н.А. Механика аэрозолей. АН СССР, Москва-Ленинград. 1955, 350 с.

41. Langmuir A.D. Epidemiology of airborne infection // Bact. Rev.1961, v 25, p. 173.

42. Couch R., Cate Th., Douglas R.,Gerone P., Knight V. Effect of route of inoculation on experimental respiratory viral disease in volunteers and evidence for airborne transmission..// Bact. Rev.- 1966-v.30- p.517.

43. Tyrell D.A. The spread of viruses in the respiratory tract by the respiratory route//Airborne microbes. London.-1967-p.286.

44. Гранкин. Э.П., В.П. Жалко-Титаренко, И.П. Малинский. Применение электромоделирования к решению задачи о распространении фронта эпидемических заболеваний.// Труды всесоюзного семинара по моделированию на сплошных средах.- Изд-во НИИ математики АН УССР.- Киев -1974.

45. Жалко-Титаренко В.П., Э.П.Гранкин, И.П. Малинский, О.В. Шиманский. К проблеме электромоделирования распространения фронта заболеваемости гриппом.// Эпидемиология и профилактика вирусных инфекций. – «Здоровье»- Киев – 1975 – с.86-88.

46. :Жалко-Титапенко В.П. Время эпидемического взаимодействия при аэрозольном механизме передачи // Профілактична медицина – 2014 - № 3-4, С.52-53.

47. Wells W. F. Eirborne contagion and air hygiene; an ecological studi of droplet nuclei infection// Harvard University Press.- Massachusets – 1955.

48. Гапочко К.Г., В.Н.Чепков. Применение простой математической модели для анализа и прогнозирования эпидемий// Воен.-мед.ж.- 1970-№3-С.59

49. Огарков В.И., Н.Г.Гапочко. Аэрогенная инфекция-Москва- «Медицина» -1975.

50. Громашевский Л.В. Общая эпидемиология-Москва – «Медицина»-1965-290 с.

51. Громашевский Л.В. Избранные труды. Том 2. –Киев-«Здоров'я» - 1987- С.357.
52. Жалко-Титаренко В.П. Предестинантные системы. Теория и приложения

www.genesisvitauniversum.info

53. Трифонов. В.И. Количественная характеристиеа рассеивания инфекции и зараженности зева и носа у больных и бактерионосителей дифтерии.// Сб. «Вопросы профилактики детских инфекций», Киев, 1966, с.50.

54 В.І. Задорожна. Емерджентні те реемерджентні вірусні інфекції сьогодення та патогенетичний потенціал їх збудників // Профілактична медицина – Київ – 2014-№ 3-4(23)-с.54.