

И.Е. Аграновский¹, А.С. Сафатов², О.В. Пьянков^{1,2},
А.А. Сергеев², А.Н. Сергеев²

Долговременный пробоотбор аэрозолей жизнеспособных вирусов

¹Факультет исследований окружающей среды, Университет Гриффитса, г. Брисбен, Австралия

²ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор», пос. Кольцово, Новосибирская обл., Россия

Поступила в редакцию 28.11.2006 г.

Продемонстрирована возможность использования персонального пробоотборника для измерения доз долговременной экспозиции персонала аэрозолями устойчивых вирусов. Результаты эксперимента показывают, что пробоотборник устойчиво обеспечивает долговременный пробоотбор и сохраняет жизнеспособность вируса осповакцины по крайней мере в течение 6 ч с потерями активности вируса, не превышающей 10%.

Введение

Существуют различные методы, используемые в настоящее время для мониторинга аэрозолей различных микроорганизмов [1–6]. Большинство пробоотборников для биоаэрозолей работают с использованием одного из трех следующих методов отбора: сухая фильтрация, инерционное осаждение на питательной среде (например, агаре) или в жидкость. И хотя некоторые другие способы, например, электростатическое осаждение, также применяются для отбора бактерий [7–9] и вирусов [10], перечисленные три метода являются основными. Благодаря сильному высыханию и соответствующему низкому уровню выживаемости, сухая фильтрация не рекомендуется для длительных мониторингов вирусосодержащих аэрозолей и используется, как правило, для простого подсчета общего количества (живых и неживых) микроорганизмов [11].

Прямой отбор аэрозолей микроорганизмов на агар также имеет некоторые ограничения, связанные с переполнением поверхности [6], со стрессами, вызванными импакцией и высыханием [12, 13], маскирующим эффектом [14, 15], потребностью в специализированных для различных микроорганизмов средах [11] и т.д. Наиболее приемлемым методом чаще всего является отбор микроорганизмов в жидкость. Действительно, образцы жидкости могут быть адаптированы с помощью последовательных разведений или концентрирования для проведения анализа числа жизнеспособных микроорганизмов в оптимальных для анализа условиях. Более того, образцы жидкости могут быть разделены на части, проанализированы с использованием различных аналитических процедур, включая микробиологические, вирусологические, иммунохимические и молекулярно-биологические.

Большинство разработанных импинжеров, применяемых для отбора проб биоаэрозолей, использу-

ют для осаждения частиц очень высокую скорость отбора (до 300 м/с), что вызывает довольно сильное движение сорбирующей жидкости и, в итоге, усиливает испарение и реаэрозользацию отбираемых частиц. Данный эффект был просчитан для прибора AGI-30 (Ace Glass Inc., Vineland, NJ, USA), наполненного водой [16, 17]. Некоторые проблемы, возникающие у стандартных импинжеров, решены в конструкции устройства Swirling Aerosol Collector [18], который в настоящее время производится как BioSampler (SKC Inc., Aighty Four, PA, USA). BioSampler работает на уровне расходов 12,5 л/мин и использует вязкую, не испаряющуюся жидкость для отбора проб. Продемонстрирована его пригодность для долгосрочных стационарных пробоотборов аэрозолей бактерий и грибов [18, 19].

В целом существующие сейчас импинжеры разработаны как стационарные устройства. Они работают на достаточно высоких скоростях прокачки (10–50 л/мин) и требуют довольно высокого перепада давления (до 50000 Па). И хотя такие характеристики делают их удобными для забора небольших частиц, эти стационарные пробоотборники не подходят для персонального мониторинга биоаэрозолей, который требует работы насоса на аккумуляторах и небольших воздушных сопротивлений. Новый подход, основанный на отборе микроорганизмов при помощи пропускания воздуха через пористую среду, погруженную в жидкость [20], позволяет достигнуть высокой эффективности отбора и обеспечить меньшее количество механических повреждений микроорганизмов. Данный подход был реализован в виде прототипа персонального пробоотборника [21], названного «барботер». Прибор состоит из входа (45 мм в диаметре), обложенного пористой средой, закрепленной муфтой к внутреннему цилиндру, и выхода (полуцилиндр с внутренним диаметром 75 мм). Выходная часть заполняется 50 мл сорбирующей жидкости так, что фильтр полностью находится в жидкости

на расстоянии 15 мм от дна внешнего цилиндра. Принцип работы основан на пропускании пузырьков содержащего аэрозоль воздуха через фильтр, погруженный в жидкость, который в свою очередь дробит пузырьки на множество очень маленьких пузырьков. Частицы вымываются из этих пузырьков, и, следовательно, эффективно удаляются. Корпус пробоотборника защищен от протекания, а значит, сорбирующая жидкость не может попасть на человека во время пробоотбора (последнее часто вызывает опасения при работе с импинжерами). К задней стенке пробоотборника прикреплен карандашный зажим, поэтому прибор может быть с легкостью пристегнут к лацкану для проведения персонального мониторинга. Портативный вакуумный насос присоединен к выходному концу для обеспечения скорости прокачки 4 л/мин.

Было показано, что барботер способен длительное время поддерживать жизнеспособность бактерий и грибов: коэффициент выживаемости при пробоотборе лабильных грам-отрицательных бактерий *P. fluorescence* составлял $(61 \pm 20)\%$, тогда как для устойчивых бактерий *B. subtilis* и грибов *A. versicolor* соответственно (95 ± 9) и $(97 \pm 6)\%$ [22]. При работе с устойчивым вирусом осповакцины барботер обеспечил коэффициент выживаемости $(89 \pm 4)\%$ за 5 мин работы [22]. И хотя лабильный вирус гриппа сохранялся лишь на $(19 \pm 8)\%$ [23], методика барботирования перспективна, по крайней мере, для относительно устойчивых вирусов в случае, если они отбирались за короткий период времени. Как уже было замечено, вирусы обычно проявляют более сильную реакцию на неблагоприятные воздействия, чем бактерии и грибы, что делает их забор еще более трудным. Дальнейшие испытания выявили, что пределы обнаружения новым барботером при заборе аэрозолей вирусов с объемным расходом 4 л/мин составляли 125 БОЕ/л (БОЕ – бляшкообразующие единицы – показывают количество вирусов в пробе, вызывающих образование бляшек на монослое культуры клеток) для времени отбора 1 мин [24]. Границы фиксации снижаются линейно со времени отбора, однако не было доподлинно установлено, может ли такая методика обеспечить высокую выживаемость вируса при более 5 мин работы, что часто требуется для мониторинга присутствия биоаэрозолей. Целью данного исследования была оценка пригодности прототипа пробоотборника при длительном отборе (вплоть до 6 ч). В качестве тестируемого аэрозоля использовался устойчивый вирус осповакцины.

Методы

Тестируемый вирус

Вирус осповакцины был выбран для исследования благодаря его устойчивости к факторам окружающей среды. Микроскопическая фотография вируса осповакцины (вирионы имеют диаметр примерно 400 нм), полученная при помощи просвечивающего электронного микроскопа JEM-100S (Jeol, Токуо, Япон) по методу, описанному в [25], представлена на рис. 1.

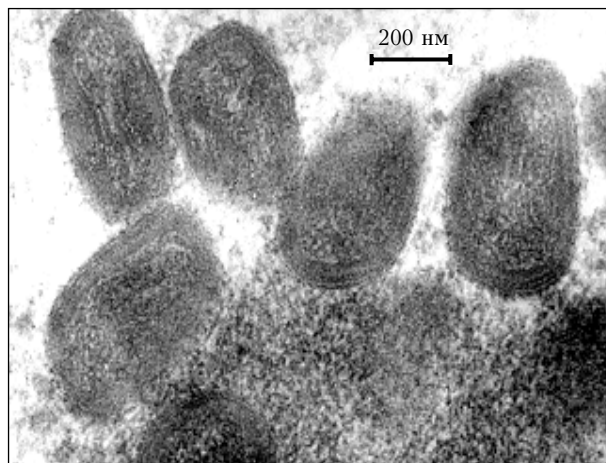


Рис. 1. Микрофотография вируса осповакцины

Штамм вируса LIVP (C0355 K0602), полученный из Института вирусологии им. Ивановского (Москва, Россия), был пассирован на развивающихся куриных эмбрионах (10 пассажей). Вирусосодержащая жидкость с концентрацией 10^7 БОЕ/мл нарабатывалась культивированием на клетках 4647 (культура клеток почки африканской зеленой мартышки *Cercopithecus Aefiops4647* была получена из коллекции «Flow Laboratories» и выращивалась в ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» (Кольцово, Россия)) и последующим трехкратным замораживанием/оттаиванием инфицированной клеточной культуры в поддерживающей среде Игла-МЕМ (MOM, Cat. # 11-100-22, ICN Biomedicals, Inc., Aurora, OH, USA). Перед использованием в эксперименте данная вирусосодержащая суспензия хранилась при температуре -70°C .

Приборы и последовательность эксперимента

Схема экспериментальной установки изображена на рис. 2. Распылитель Коллисона с 3 потоками (BGI Inc., Waltham, MA, USA), работавший с объемным расходом 6 л/мин сухого фильтрованного воздуха, был наполнен разведенной вирусосодержащей суспензией с титром $4 \cdot 10^4$ БОЕ/мл. Распылитель перезаправлялся каждый час свежей суспензией для достижения исходного уровня жидкости и для поддержания примерно одинаковой концентрации вируса в течение всего эксперимента. Аэрозольный поток из распылителя смешивался с потоком сухого фильтрованного воздуха (расход 10 л/мин) и подавался в 400-литровую динамическую экспериментальную камеру, в которой горизонтальный аэрозольный поток имел скорость примерно 0,1 м/с [26]. Суммарный поток через камеру составлял $6 + 10 = 16$ л/мин, что позволяло использовать камеру в режиме, при котором поток в ней равномерен по сечению камеры и минимизированы потери частиц от гравитационного оседания, которое могло происходить на низких скоростях потоков. Равномерность воздушного потока контролировалась на стадии запуска камеры и перепроверялась после каждого опыта как оптическим счетчиком частиц (аэрозольной концентрации),

так и проволочным анемометром в различных точках внутри нее. Разброс значений между точками, где проводились измерения, не превышал 10%.

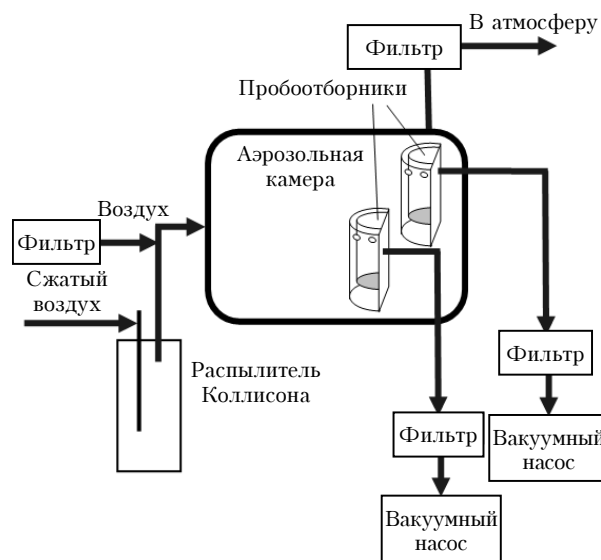


Рис. 2. Схема экспериментальной установки

Аналогично предыдущим исследованиям [23], в первоначальную суспензию, находящуюся в распылителе, была добавлена флуоресцирующая метка ($C_{20}H_{10}NA_2O_2$, Fluka AG, Buchs, Switzerland), что позволило отслеживать количество вирусного материала в исходной суспензии (до распыления) и в сорбирующей жидкости (после забора) по флуоресценции образца. Было установлено отношение между концентрацией вируса в жидкости и сигналом флуоресценции, причем 1 флуоресцирующая единица (ФЕ) была тождественна 1 БОЕ, что было достигнуто добавлением соответствующего количества флуоресцентной метки до концентрации $4 \cdot 10^4$ ФЕ/мл. Количество метки в пробе в дальнейшем определялось и для суспензии в распылителе. Интенсивность флуоресценции определялась флуориметром (ФЛ-1, ЛОМО, Ст. Петербург), с чувствительностью $(10 \pm 0,2)$ ФЕ/мл.

Три идентичных пробоотборника, заполненных 50 мл раствора Хэнкса, содержащего 2% объема инактивированной бычьей сыворотки, 100 Ед./мл пеницилина и 10 мкг/мл стрептомицина, были помещены в экспериментальную камеру и работали параллельно с расходом 4 л./мин в течение 6 ч. Вышеописанная сорбирующая жидкости была выбрана для обеспечения максимальной выживаемости вируса в пробоотборнике [21, 27].

Количество флуоресцентной метки в каждом пробоотборнике измерялось после 1, 2, 4 и 6 ч, и по 2 мл сорбирующей жидкости бралось на биологический анализ для определения содержания вируса в ней. Для определения биологической активности вирусов был использован стандартный метод бляшкообразования [28]. Образцы исходной суспензии были взяты из распылителя в те же времена для определения флуоресценции суспензии и титра вируса по БОЕ. Для осуществления данной процедуры готовились

10-кратные разведения вирусосодержащих проб в среде Эрла, содержащей антибиотика. По 100 мкл каждого разведения было добавлено к монослою клеток 4647 в 24 луночные планшеты (Costar, Pleasanton, CA, USA). Клетки инкубировались в присутствии вируса в течение 1 ч при температуре $37^\circ C$ в атмосфере увлажненного инкубатора с 5%-м содержанием CO_2 . Планшеты встряхивались каждые 10–15 мин, супернатант сливался через 1 ч, после чего монослой покрывался 2 мл 1% агара (Difco) в среде RPMI-1640 [25], содержащей 2% эмбриональной телячьей сыворотки и антибиотика. Планшеты инкубировались в течение 48 ч при температуре $37^\circ C$ в увлажненном инкубаторе (5% CO_2). Затем монослой были окрашены и образовавшиеся бляшки подсчитаны.

Коэффициент выживаемости вируса (КВВ) рассчитывался как количество БОЕ на одну флуоресцирующую единицу, полученное после взятия образцов из сорбирующей жидкости, отнесенное к аналогичной величине в исходной диспергируемой суспензии:

$$КВВ = \frac{(БОЕ/ФЕ)_{\text{сорб.ж.}}}{(БОЕ/ФЕ)_{\text{исх.с.}}}$$

Так как в наших экспериментах исходная суспензия была приготовлена с отношением БОЕ/ФЕ = 1 и ее характеристики оставались неизменными как минимум в течение 1 ч распыления (после которого распылитель наполнялся новой суспензией), то можно определить коэффициент выживаемости вируса в любое время пробоотбора подстановкой соответствующих величин непосредственно в формулу. Средние значения коэффициентов выживаемости вируса со стандартным отклонением определялись по трем идентичным пробоотборникам в трех повторностях.

Концентрация и распределение по размеру частиц в воздухе отслеживались оптическим аэрозольным спектрометром (Модель 1.108, Grimm Aerosol Technik, Ainring, Germany). Эксперименты осуществлялись при относительной влажности 50–55% и температуре воздуха $22-24^\circ C$. Чтобы исключить выход вирусов в воздушную среду лаборатории, между пробоотборниками и насосом были установлены высокоэффективные воздушные фильтры.

Результаты и обсуждения

Распределение вирусосодержащих частиц по размеру, измеренное оптическим аэрозольным спектрометром в экспериментальной камере, представлено на рис. 3.

Видно, что оптический диаметр частиц находится в пределах 0,5–20 мкм с модальным значением 2,2 мкм. При этом вирус обнаруживался примерно в 1 из 10 аэрозольных частиц. Поскольку относительная влажность воздуха фиксировалась в пределах 50–55%, распределение размеров частиц постоянно изменялось при переходе из точки аэрозольирования в пробоотборник. Поэтому важно уточнить, что распределения по размерам частиц измерялись внутри входного отверстия пробоотборника сразу над уровнем собирающей жидкости.

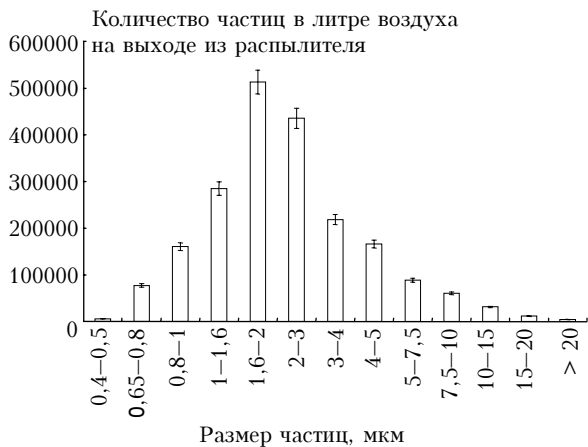


Рис. 3. Распределение по размерам вирусосодержащих частиц. Представлены данные для средних величин и стандартных отклонений для 5 измерений

Уменьшение концентрации вируса осповакцины в диспергируемой суспензии, фиксируемое за 1 ч, в среднем не превышало 7% (рис. 4), следовательно, условия распыления вируса со временем не изменялись.

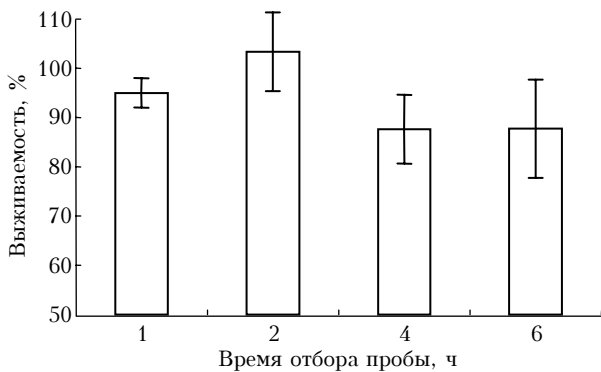


Рис. 4. Коэффициент выживаемости вируса осповакцины в пробоотборнике. Представлены данные для средних величин и стандартных отклонений для повторов измерений на трех одинаковых пробоотборниках в каждом

Более того, измерения концентрации аэрозоля, проводимые в реальном времени в камере (оптическим счетчиком аэрозолей), показали ее очень высокую однородность. Таким образом, биоаэрозоль в зонах пробоотбора имел практически одинаковые характеристики на протяжении всего эксперимента и, следовательно, любые изменения концентрации вируса в сорбирующей жидкости обусловлены исключительно эффективностью работы пробоотборника.

На рис. 5 показано изменение интенсивности свечения (флуоресценции) и содержания вируса в сорбирующей жидкости как функции от времени взятия проб.

Обе зависимости аппроксимируются линейными функциями. Постоянный уровень накопления вируса в сорбирующей жидкости в течение 6 ч указывает на то, что пробоотборник работал с постоянной эффективностью, а это говорит о хороших перспективах ис-

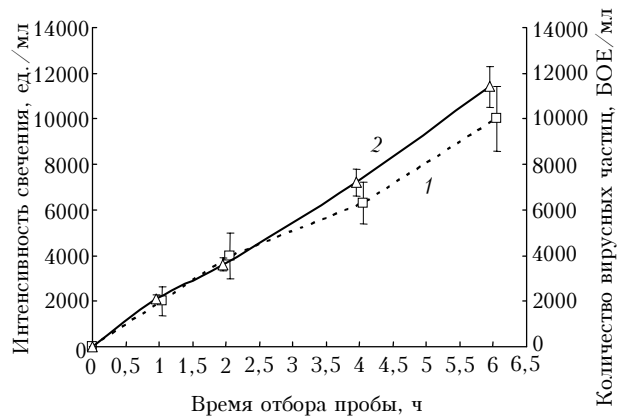


Рис. 5. Концентрация вируса осповакцины в сорбирующей жидкости. Представлены данные для средних величин и стандартных отклонений для трех повторов измерений на трех одинаковых пробоотборниках в каждом. 1 – количество вирусных частиц в пробоотборнике; 2 – свечение жидкости в пробоотборнике

пользования барботажной техники при долговременных отборах вирусных аэрозолей. Поскольку эффективность осаждения аэрозольных частиц зависит от их размера, уменьшаясь только для субмикронных частиц, необходимо напомнить, что в наших экспериментах размер содержащих вирус частиц был довольно большим. Размер вирусосодержащих капель, создаваемых диспергатором в проведенных экспериментах, был близок к естественным вирусным аэрозолям.

Для дополнительного обоснования приемлемости экспериментального метода был рассчитан материальный баланс с использованием следующей информации: расход жидкости при диспергировании равен 0,2 мл суспензии в 1 мин, концентрация вируса в распылителе составляла $4 \cdot 10^4$ БОЕ/мл, а общий поток воздуха в камере равнялся 16 л/мин. Учитывая, что интенсивность прокачки каждого из трех пробоотборников была 4 л/мин, максимальное количество жидкости, которое возможно забрать за 1 ч каждым прибором, составляет 3 мл, соответствующее количество вирусного вещества – $12 \cdot 10^4$ БОЕ. Количество БОЕ, находящихся в 50 мл объема жидкости внутри пробоотборника, создавало концентрацию $2,4 \cdot 10^3$ БОЕ/мл после 1 ч непрерывной работы пробоотборника. Экспериментально измеренная концентрация вируса, полученная при анализе сорбирующей жидкости, по данным флуоресценции, равнялась $1,95 \cdot 10^3$ БОЕ/мл (см. рис. 5), что всего на 19% меньше теоретически возможной величины. Такая относительно малая разница может быть отнесена к потерям частиц при работе системы.

Данные, представленные на рис. 4, показывают, что коэффициент выживаемости вируса осповакцины в пробоотборниках достигал $(90 \pm 9)\%$ в течение их 6-часовой работы. Разброс измеренных значений между пробоотборниками не превышал 20% для каждого опыта. В наших предыдущих исследованиях [23] были получены данные об аналогичном среднем коэффициенте выживаемости вируса при работе про-

боотборника за более короткий период (5 мин). Полученные данные позволяют значительно расширить период мониторинга. Некоторое снижение коэффициента выживаемости вируса (демонстрируемое кривой регрессии в точках пробоотбора в течение 4 и 6 ч) не является статистически значимым ($p > 0,05$), что было показано с помощью однофакторного дисперсионного анализа. Уменьшение коэффициента выживаемости вируса после 6 ч работы на 10% является очень низкими. Уровень выживаемости вируса осповакцины, полученный в ходе исследования, сопоставим с тем, который был обнаружен у устойчивых штаммов бактерий и грибов, отбирившихся теми же пробоотборниками в течение длительного времени [20].

Важно отметить, что данные, представленные в статье, были получены для устойчивых штаммов вируса и могут быть неприменимы к более чувствительным вирусам. Но даже в случае инаktivации вирусов под действием неблагоприятных факторов внешней среды или в результате пробоотбора и нахождения вируса в пробоотборнике наличие ДНК или РНК того или иного вируса (которые разрушаются гораздо медленнее, чем уменьшается жизнеспособность вируса) может быть определено химическими или молекулярно-биологическими методами. Поэтому основная задача обнаружения вирусосодержащего аэрозоля в воздухе может быть решена и без определения биологической активности вируса.

1. *Burge H.A., Solomon W.R.* Sampling and analysis of biological aerosols // *Atmos. Environ.* 1987. V. 21. N 2. P. 451–456.
2. *Comtois P., Isard S.* Aerobiology: coming of age in a new millennium // *Aerobiol.* 1999. V. 15. N 4. P. 259–266.
3. *Buttner M.P., Willeke K., Grinshpun S.A.*, Sampling and analysis of airborne microorganisms // *Manual of Environmental Microbiology*, 2nd edition. Washington, DC: ASM Press, 2002. P. 814–826.
4. *Ho J.* Future of biological aerosol detection // *Anal. chim. acta.* 2002. V. 457. N 1. P. 125–148.
5. *Macher J.M., Chatigny M.A., Burge H.A.* Sampling airborne microorganisms and aeroallergens // Ed-s B.S. Cohen, S.V. Hering. *Air sampling instruments for evaluation of atmospheric contaminants.* Cincinnati, OH: ACGIH, 1995. P. 279–321.
6. *Reponen T., Nevalainen A., Willeke K., Grinshpun S.A.* Biological particle sampling // Ed-s P.A. Baron, K. Willeke. *Aerosol measurement: principles, techniques, and applications.* 2nd edition. New York: Wiley & Sons, 2001. P. 751–777.
7. *Mainelis G., Grinshpun S.A., Willeke K., Reponen T., Ulevicius V., Hintz P.* Collection of airborne microorganisms by electrostatic precipitation // *Aerosol Sci. Technol.* 1999. V. 30. N 2. P. 127–144.
8. *Mainelis G., Adhikari A., Willeke K., Lee S.-A., Reponen T., Grinshpun S.A.* Collection of airborne microorganisms by a new electrostatic precipitator // *J. Aerosol Sci.* 2002. V. 33. N 10. P. 1417–1432.
9. *Mainelis G., Willeke K., Adhikari A., Reponen T., Grinshpun S.A.* Design and collection efficiency of a new electrostatic precipitator for bioaerosol collection // *Aerosol Sci. Technol.* 2002. V. 36. N 11. P. 1073–1085.

10. *Hogan C.J., Lee M.-H., Biswas P.* Capture of viral particles in soft X-ray-enhanced corona systems: Charge distribution and transport characteristics // *Aerosol Sci. Technol.* 2004. V. 38. N 5. P. 475–486.
11. *Bioaerosols Handbook* / Ed-s C.S. Cox, C.M. Wathes. Boca Raton, FL: CRC Lewis Publishers, 1995. 621 p.
12. *Crook B.* Inertial samplers: biological perspective // Ed-s C.S. Cox, C.M. Wathes. *Bioaerosols Handbook.* Boca Raton, FL: CRC Lewis Publishers, 1995. P. 247–267.
13. *Stewart S., Grinshpun S.A., Willeke K., Terzieva S., Ulevicius V., Donnelly J.* Effect of impact stress on microbial recovery on an agar surface // *Appl. Environ. Microbiol.* 1995. V. 61. N 4. P. 1232–1239.
14. *Chang C.W., Hwang Y.H., Grinshpun S.A., Macher J.M., Willeke K.* Evaluation of counting error due to colony masking in bioaerosol sampling // *Appl. Environ. Microbiol.* 1994. V. 60. N 10. P. 3732–3738.
15. *Chang C.W., Grinshpun S.A., Willeke K., Macher J.M., Donnelly J., Clark S., Juozaitis A.* Factors affecting microbiological colony count accuracy for bioaerosol sampling and analysis // *Amer. Ind. Hyg. Assoc. J.* 1995. V. 56. N 10. P. 979–986.
16. *Grinshpun S.A., Willeke K., Ulevicius V., Juozaitis A., Terzieva S., Donnelly J., Stelma G.N., Brenner K.* Effect of impaction, bounce and re-aerosolization on collection efficiency of impingers // *Aerosol Sci. Technol.* 1997. V. 26. N 4. P. 326–342.
17. *Lin X., Willeke K., Ulevicius V., Grinshpun S.A.* Effect of Sampling Time on the Collection Efficiency of All-Glass Impingers // *Amer. Ind. Hyg. Assoc. J.* 1997. V. 58. N 7. P. 480–488.
18. *Willeke K., Lin X., Grinshpun S.A.* Improved aerosol collection by combined impaction and centrifugal motion // *Aerosol Sci. Technol.* 1998. V. 28. N 5. P. 439–456.
19. *Lin X., Reponen T., Willeke K., Grinshpun S.A., Forarde K.K., Ensor D.S.* Long-term sampling of airborne bacteria and fungi into a non-evaporating liquid // *Atmos. Environ.* 1999. V. 33. N 26. P. 4291–4298.
20. *Agranovski I., Agranovski V., Reponen T., Willeke K., Grinshpun S.* Collection of airborne microorganisms into liquid by bubbling through porous medium // *Aerosol Sci. Technol.* 2002. V. 36. N 4. P. 502–509.
21. *Agranovski I., Safatov A., Pyankov O., Sergeev A.N., Agafonov A., Ignatiev G., Ryabchikova E., Borodulin A., Sergeev A.A., Doerr H., Rabenau H., Agranovski V.* Monitoring of viable airborne SARS virus in ambient air // *Atmos. Environ.* 2004. V. 38. N 23. P. 3879–3884.
22. *Agranovski I., Agranovski V., Grinshpun S., Reponen T., Willeke K.* Development and evaluation of a new personal sampler for viable airborne microorganisms // *Atmos. Environ.* 2002. V. 36. N 5. P. 889–898.
23. *Agranovski I., Safatov A., Borodulin A., Pyankov O., Petrishchenko V., Sergeev A., Sergeev A., Agranovski V., Grinshpun S.* New personal sampler for viable airborne viruses: Feasibility study // *J. Aerosol Sci.* 2004. V. 36. N 5–6. P. 609–617.
24. *Аграновский И.Е., Сергеев А.Н., Пьянков О.В., Петрищенко В.А., Агафонов А.П., Игнатьев Г.М., Бородулин А.И., Сафатов А.С.* Тестирование нового персонального пробоотборника для обнаружения жизнеспособных вирусов в аэрозоле // *Оптика атмосф. и океана.* 2004. Т. 17. № 5–6. С. 483–487.
25. *Hazelton P.R., Gelderblom H.R.* Electron microscopy for rapid diagnosis of infectious agents in emergent situations // *Emerg. Infect. Dis.* 2003. V. 9. N 3. P. 294–303.
26. *Ryzhikov A.B., Ryabchikova E.I., Sergeev A.N., Tkacheva N.V.* Spread of Venezuelan Equine Encephalitis virus

- in mice olfactory tract // Arch. Virol. 1995. V. 40. N 12. P. 2243–2254.
27. *Agranovski I., Safatov A., Borodulin A., Pyankov O., Petrishchenko V., Sergeev A., Agafonov A., Ignatiev G., Sergeev A., Agranovski V.* Inactivation of viruses in bubbling processes utilized for personal bioaerosol monitoring // Appl. Environ. Microbiol. 2004. V. 70. N 12. P. 6963–6967.
28. *Gould E.A., Clegg J.C.S.* Growth, titration and purification of Alfa-viruses and Flaviviruses // Virology. A practical approach / Ed. B.W.J. Mahy. Oxford: Oxford University Press, 1985. P. 43–78.

I.E. Agranovskii, A.S. Safatov, O.V. Pyankov, A.A. Sergeev, A.N. Sergeev. **Long-term sampling of viable virus aerosols.**

The data demonstrate a good potential of the new technique for measuring personal exposure to robust airborne viruses over a long period. The results obtained show that the sampler has a consistent collection efficiency over time and is capable of maintaining the viability of *Vaccinia*, for at least 6 hours, with a loss in recovery rate of about 10%.