

**Головинская Татьяна Михайловна**

**БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ  
АСПЕКТЫ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ФАГОДИАГНОСТИКИ  
СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ**

03.01.06 – биотехнология

(в том числе бионанотехнологии)

03.02.03 – микробиология

**Автореферат**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Работа выполнена в Федеральном казенном учреждении здравоохранения «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

**Научные руководители:**

**Куличенко Александр Николаевич**, доктор медицинских наук, профессор

**Цыганкова Ольга Ивановна**, доктор медицинских наук

**Официальные оппоненты:**

**Липницкий Анатолий Васильевич**, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, главный научный сотрудник лаборатории сибирской язвы.

**Терентьев Александр Николаевич**, доктор медицинских наук, Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, заведующий лабораторией диагностики особо опасных инфекций.

**Ведущая организация:** Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Защита состоится «02» декабря 2014 года в 14 часов на заседании диссертационного совета Д 208.109.01 при ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора по адресу: 355035, г. Ставрополь, ул. Советская, 13-15

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора и на сайте [www.snipchi.ru](http://www.snipchi.ru)

Автореферат разослан «14» октября 2014 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

Жарникова Ирина Викторовна



## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** В Российской Федерации практически ежегодно регистрируется заболеваемость людей и животных сибирской язвой, которая так же как во всем мире не имеет тенденции к снижению [Бургасов П.Н. с соавт., 1970; Бургасов П.Н., Рожков Г.И., 1984; Маринин Л.И. с соавт., 1999; Рязанова А.Г. с соавт., 2011; 2012; Онищенко Г.Г. с соавт. 1999, 2012; Куличенко А.Н. с соавт., 2012; Антюганов С.Н. с соавт., 2012, 2012а; Еременко Е.И. с соавт., 2010, 2013].

Опасность сибирской язвы в первую очередь связана с тяжестью течения заболевания людей и животных, высокой летальностью, значительностью экономических затрат на лечение больных и проведение противоэпидемических и противозооотических мероприятий. Другим аспектом этой проблемы является длительная выживаемость *B. anthracis* в споровой форме в окружающей среде, что приводит к формированию стойких почвенных очагов.

Составленный «Кадастр стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов Российской Федерации» содержит сведения о местонахождении 36091 стационарно неблагополучных пунктов с почвенными очагами сибирской язвы [Кадастр...М., 2005, Маринин Л.И., 2008], значительная часть которых находится на юге РФ [Хотько Н.И., 1994; Киреев Ю.Г. с соавт., 1996, Еременко Е.И. с соавт., 1996; Агапов В.А. с соавт., 1997; Петров С.П. с соавт., 1997; Петрюк В.А. с соавт., 1997; Куличенко А.Н. с соавт., 2010; Буравцева Н.П. с соавт., 2011, 2011а, 2012; Мезенцев В.М. с соавт., 2012; Антюганов С.Н. с соавт., 2012].

1. Разработана биотехнология производства препарата «Бактериофаг диагностический сибирезывенный Гамма А-26 жидкий»: предложен новый авирулентный штамм размножения (продуцент) бактериофага *B. anthracis* 228/8, подобраны условия репродукции бактериофага сибирезывенного Гамма А-26 – дозы внесения культуры размножения в виде спор и производственного бактериофага, длительность инкубирования (получения фаголизата), экспериментально обоснован срок годности готового препарата.
2. Определены штаммы *B. anthracis* с различной чувствительностью к литическому действию бактериофагов для проверки специфической активности и сапрофитов рода *Bacillus* для подтверждения специфичности препарата «Бактериофаг диагностический сибирезывенный Гамма А-26 жидкий».
3. Составлена и утверждена нормативная документация на бактериофаг сибирезывенный Гамма А-26: технические условия (ТУ) 9386-013-01897080-2009, пусковой регламент (ПУР) № 01897080-03-09, инструкция по применению. Получено регистрационное удостоверение от Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения № ФСР 2011/10451. Налажено производство препарата «Бактериофаг диагностический сибирезывенный Гамма А-26 жидкий».
4. Сибирезывенные бактериофаги Гамма А-26, ВА-9, R/D-Ph-6, 186, Fah-ВНИИВВиМ, К ВИЭВ, Саратов обладают различной специфической активностью и специфичностью. Бактериофаги Гамма А-26, ВА-9, R/D-Ph-6 лизировали 99,1 % штаммов с разными фенотипическими свойствами, бактериофаги Fah-ВНИИВВиМ, К ВИЭВ, Саратов, 186 – 58,7-65,7 %. Бактериофаги R/D-Ph-6, 186, Fah-ВНИИВВиМ, К ВИЭВ, Саратов обладают 100 % специфичностью, соответствующий показатель для бактериофагов Гамма А-26, ВА-9 составил 92 %.
5. На основании сравнительного анализа специфической активности и специфичности 7 сибирезывенных бактериофагов установлено, что повышение достоверности фагодиагностики сибирской язвы может быть достигнуто за счет комплексного применения бактериофагов Гамма А-26 и R/D-Ph-6 или 186 для идентификации штаммов сибирезывенного микроба; бактериофага R/D-Ph-6 – для индикации *B. anthracis* в объектах окружающей среды методом РНФ; сочетанное применение сибирезывенных бактериофагов Гамма А-26 и 186 для определения фаготипов штаммов возбудителя сибирской язвы.

6. Оптимизированы параметры теста РНФ с применением бактериофага R/D-RH-6 (предварительное подращивание пробы в течение 3 ч, доза внесения бактериофага –  $2 \times 10^4$  БОЕ/мл, последующая инкубация 8 ч). Доказана возможность применения бактериофага R/D-RH-6 в тесте РНФ в целях индикации *B. anthracis* в объектах окружающей среды.

7. В зависимости от наличия чувствительности к литическому действию бактериофагов Гамма А-26 и 186 или одного из них, штаммы *B. anthracis* разделяются на 3 фаготипа. При изучении фаготипов предложенным методом, из 114 штаммов *B. anthracis* к фаготипу 1 принадлежали 74,6 %, к фаготипу 2 – 24,5 % и к фаготипу 3 – 0,9 % исследованных штаммов. По основным культурально-морфологическим и биохимическим свойствам наиболее типичными являются штаммы, относящиеся к фаготипу 1.