

АБЗАЕВА
Наталья Вячеславовна

ПОВЫШЕНИЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ
***Yersinia pestis* EV В БИОМАССЕ ВАКЦИНЫ**

03.02.03 – микробиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Ставрополь – 2010

Работа выполнена
в ФГУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный
институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека.

Научный руководитель: доктор медицинских наук
Будыка Дмитрий Александрович

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор
Тюменцева Ирина Степановна;

доктор биологических наук
Тохов Юрий Мухамедович

Ведущая организация: ФГУН «Государственный научный центр
прикладной микробиологии и биотехнологии»
Роспотребнадзора

Защита диссертации состоится «28» апреля 2010 г. в 12⁰⁰ часов
на заседании диссертационного совета ДМ 212.256.09 при Ставропольском
государственном университете по адресу: 355009, г. Ставрополь, ул. Пуш-
кина, д. 1, корпус 2, аудитория 506.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ставропольского
государственного университета.

Автореферат разослан «23» марта 2010 г.



Ученый секретарь
диссертационного совета

И. В. Ржепаковский

Ржепаковский И. В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Живые вакцины представляют собой иммунопрофилактические препараты, состоящие из наследственно измененных форм возбудителей инфекционных болезней. Применение вакцинации как средства специфической профилактики особо опасных инфекций в течение длительного времени свидетельствует о сохранении ее весомой роли в системе противоэпидемических мероприятий (Исупов И.В., Бугоркова С.А., Кутырев В.В., 2004). В нашей стране для профилактики чумной инфекции используют живую вакцину из штамма *Yersinia pestis* EV.

Стабилизация качества препарата, а именно необходимость сохранения всех свойств микробных клеток в течение длительного времени, является наиболее значимым вопросом в производстве живых вакцин. Последнее время в орбите научных интересов, касающихся совершенствования биотехнологии производства вакцины чумной живой, оказались методические приемы, направленные на дальнейшую стандартизацию коммерческого препарата по показателю жизнеспособности клеток *Y. pestis* EV (Ракитина Е.Л., 1988; Будыка Д.А., 2002; Ефременко А.А., 2005). Современная тактика совершенствования вакцины чумной направлена на разработку и внедрение в производство дополнительных условий стабилизации числа живых микробных клеток в прививочной дозе коммерческой вакцины.

В результате ранее проведенных исследований была разработана производственная биотехнология вакцины чумной живой с содержанием от 20 до 50 доз в ампуле (Ефременко А.А., 2005). Полученный с нашим участием по новой биотехнологии препарат соответствует требованиям, предъявляемым к вакцине чумной живой, и включен в действующий промышленный регламент № 01897080-09-09 на производство вакцины чумной живой.

Имеющиеся литературные данные (Алутин И.М., 1974) дают основание предполагать, что снижение температуры культивирования чумного микроба до 20-25 °С может значительно улучшить качество вакцины за счет возрастания в биомассе процента живых клеток, так как здесь температурный фактор определяет соответствующий уровень физиологической и метаболической активности микробных клеток. Вышеизложенное послужило основанием для апробации режимов культивирования вакцинного штамма при температуре (21±1) °С вместо регламентированных в ПР на вакцину чумную (27±1) °С, что способствовало большей устойчивости к лиофилизации на одноименном этапе производства препарата вакцины (коррекция биологических параметров) (Тинкер А.И., Будыка Д.А., Гайдина В.В. и др., 1993; Тинкер А.И., Гончарова М.Н., Будыка Д.А. и др.,

1994; Иванова Г.Ф., Будыка Д.А., Тинкер А.И. и др., 1997; Иванова Г.Ф., Будыка Д.А., Гюлушанян К.С., Руднев С.М. 1998; Иванова Г.Ф., Будыка Д.А., Тинкер А.И. и др., 1998).

Полученные результаты определяют целесообразность и перспективность доработки и внедрения пониженной температуры культивирования биомассы (21 ± 1) °С в процесс производства вакцины чумной живой. Кроме того, приведенные сведения являются достаточным экспериментально-теоретическим обоснованием для отработки и внедрения в биотехнологию вакцины чумной живой сочетанного воздействия обоих указанных выше факторов: физико-биологического и количественно-объемного.

Отработка и внедрение в биотехнологию выращивания биомассы препарата вакцины чумной живой пониженной температуры культивирования, а также сочетание с оптимизацией ее параметров на этапах сведения и розлива, позволивших повысить исходную жизнеспособность и стабилизировать число живых микробных клеток в прививочной дозе, определяют актуальность данной работы.

ВЫВОДЫ

1. Культивирование микробных клеток вакцинного штамма чумного микроба *Y. pestis* EV при температуре $(21 \pm 1)^\circ\text{C}$ как в бульоне, так и на агаре, обеспечило накопление гораздо более жизнеспособной их популяции, чем при $(27 \pm 1)^\circ\text{C}$.

2. Культуры штамма *Y. pestis* EV чумного микроба, выращенные в АКМ-Ш при температуре $(21 \pm 1)^\circ\text{C}$, целесообразно использовать для приготовления вакцинного препарата в связи с высоким показателем количества живых микробных клеток и устойчивостью их к лиофильному высушиванию и последующему хранению.

3. Разработан и включен в промышленный регламент препарат вакцины со сниженным количеством доз в ампуле (от 20 до 50), являющийся более экономичной и удобной формой для практики прививочных мероприятий в небольших коллективах.

4. Экспериментальные образцы вакцины чумной живой, полученной при оптимальном сочетании температурных и количественных параметров вакцинной суспензии, характеризуются наилучшими качественными показателями готового препарата, такими как жизнеспособность и стабильность свойств при хранении, что сопряжено с наименьшими показателями повреждаемости.

5. Иммуногенные свойства различных серий вакцины чумной, изученные в системе, воспроизводящей феномен «переживания» на белых мышах, соответствуют предъявляемым к вакцинам требованиям. Обоснована возможность для внедрения указанного иммунологического приема наряду с классическим методом оценки иммуногенности вакцины чумной живой на модели белых мышей.

6. Устойчивость к чуме у белых мышей коррелирует с защитной функцией ПМЯЛ, обеспечиваемой главным образом МПО при вспомогательном участии КБ. Изменение уровня активности МПО и КБ может служить косвенным показателем степени устойчивости белых мышей к чумной инфекции.