



**КУРЧЕВА**

**Светлана Александровна**

**РАЗРАБОТКА БИОТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА  
ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ  
ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ТУЛЯРЕМИИ  
И ИНДИКАЦИИ ЕЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ**

**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 государственном учреждении здравоохранения «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

**Научные руководители:** доктор медицинских наук, профессор  
**Тюменцева Ирина Степановна**  
доктор медицинских наук, профессор  
**Афанасьев Евгений Николаевич**

**Официальные оппоненты:** доктор медицинских наук  
**Будыка Дмитрий Александрович**  
кандидат биологических наук  
**Воробьева Оксана Владимировна**

**Ведущая организация:** ФГУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора

Защита диссертации состоится 25 октября 2011 г. в 13-00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.109.01 при Ставропольском научно-исследовательском противочумном институте по адресу: 355035, г. Ставрополь, ул. Советская, 13-15

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Ставропольского научно-исследовательского противочумного института

Автореферат разослан «13» сентября 2011 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета  
доктор биологических наук



Жарникова И.В.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Туляремия – природно-очаговая инфекция, относящаяся к особо опасным инфекционным болезням, крупные вспышки и спорадические случаи которой периодически регистрируются во многих странах мира, в том числе в России (Никифоров В.В., Кареткина Г.Н., 2007; Splettsfoesser W.D., Tomaso H., Al Dahouk S. et al., 2005).

Природные очаги туляремии отличаются длительностью существования, стойкостью и способностью проявлять активность через много лет эпизоотического и эпидемиологического спокойствия. Особенностью эпидемиологии туляремии является большое разнообразие источников, носителей, переносчиков, факторов передачи возбудителей, механизмов заражения, входных ворот инфекции (Олсуфьев Н.Г., 1975; Новиков Н.Л., Попов В.П., Жуков В.И. с соавт., 2003; Онищенко Г.Г., Дроздов И.Г., Федоров Ю.М. с соавт., 2003; Онищенко Г.Г., 2006; Онищенко Г.Г., Смоленский В.Ю., 2009 и др.). Возбудитель туляремии обладает высокой экологической пластичностью и вследствие этого высокой устойчивостью в объектах окружающей среды, а по своим биологическим свойствам отнесен к высшей категории «А» среди наиболее опасных патогенных микроорганизмов – потенциальных агентов биологического оружия (Мещерякова И.С., Демидова Т.Н., Горшенко В.В., 2007; Романова Л.Н., 2008).

Диагностика туляремии складывается из индикации и идентификации возбудителя или его специфических антигенов и определения сывороточных антител у человека и восприимчивых животных, при этом, как правило, на практике предпочтение отдается иммунодиагностике, характеризующейся экспрессностью, высокой специфичностью и чувствительностью. К настоящему времени для диагностики туляремии отечественными и зарубежными учеными предложено значительное количество эффективных иммунодиагностических тестов. Однако большая их часть – экспериментальные разработки (Сырова Н.А., Терешкина Н.Е., Девдариани З.Л., 2008).

В связи со сказанным, исследования, направленные на совершенствование и разработку туляремиальных иммунодиагностик, налаживание производственного выпуска сертифицированных препаратов, не утрачивают своей актуальности.

## ВЫВОДЫ

1. На основании изучения белковых спектров водорастворимых антигенов и их свойств определены три производственных штамма возбудителя туляремии разных подвидов: *F. tularensis* 543/6 (*mediaasiatica*), *F. tularensis* Schu (*nearctica*), *F. tularensis* 503/840 (*holarctica*), из которых получен по разработанной нами схеме полигрупповой белковый антиген.

2. Предложены производственные схемы иммунизации, позволяющие получать высокий иммунный ответ практически у 100 % кроликов-продуцентов. Определены наиболее эффективные методы выделения IgG из гипериммунных сывороток и их очистки для различных групп диагностических препаратов.

3. Разработана биотехнология производства эритроцитарных туляреминых антигенного и иммуноглобулинового диагностикумов (№ ФСР 2011/10270 и № ФСР 2011/10271), а также стандартного образца ФГУЗ СтавНИПЧИ Роспотребнадзора сыворотки диагностической туляреминой, используемой в качестве контрольной при постановке серологических реакций и входящей в комплекты наборов диагностикумов.

4. Унифицирована биотехнология изготовления туляреминых иммунопероксидазных конъюгатов для выявления антигенов и сывороточных антител. Набор реагентов тест-системы диагностической для выявления возбудителя туляремии в ИФА зарегистрирован в Росздравнадзоре (№ ФСР 2010/06744).

5. Определены биотехнологические параметры изготовления туляреминых флуоресцирующих иммуноглобулинов, обеспечивающие рабочее разведение препарата 1:16 – 1:32: рН реакционной смеси – 9,5, нагрузка ФИТЦ – 20 мг на 1 г белка, температура 20 °С при четырехчасовом контакте белка с красителем.

6. Многочисленные лабораторные испытания изготовленных серий эритроцитарных, иммунофлуоресцентных, иммуноферментных препаратов показали их соответствие разработанным параметрам качества и требованиям, предъявляемым к иммунобиологическим препаратам. Диагностическая ценность названных МИБП подтверждена исследованиями различного полевого материала (клещи, грызуны, вода открытых водоемов), собранного в Ставропольском и Краснодарском краях, Карачаево-Черкесской республике.

7. Сконструированный аффинный сорбент с магнитными свойствами на основе алюмосиликатной матрицы и поликлональных туляреминых антител обладает высокой специфической активностью и специфичностью, что подтверждено полевыми испытаниями, демонстрирующими возможность исследо-

вания проб с высокой степенью загрязнений биотической и абиотической природы, низкой концентрацией патогена, при этом чувствительность модифицированного ИФА повысилась на два-три порядка по сравнению с традиционным анализом, и это позволило увеличить число положительных находок более, чем в шесть раз.