

## СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ФАГОДИАГНОСТИКИ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ: ОЦЕНКА СПЕЦИФИЧНОСТИ БАКТЕРИОФАГА «186»

Т. М. Головинская, О. И. Цыганкова, А. Г. Рязанова, А. Н. Куличенко  
Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт

**С**ибиреязвенные бактериофаги занимают важное место в перечне препаратов для диагностики сибирской язвы, обеспечивая проведение одного из обязательных тестов идентификации *Bacillus anthracis*. Бактериофаги, применяющиеся для идентификации культур *B. anthracis*, обладают различным спектром специфической литической активности и показателем специфичности [1, 2, 4, 5, 6, 7]. В связи с этим идет постоянный поиск новых бактериофагов, оптимальных по указанным свойствам.

В рабочей коллекции лаборатории сибирской язвы ФКУЗ Ставропольского противочумного института Роспотребнадзора длительное время находится бактериофаг «186», полученный от врача-бактериолога Туркменской противочумной станции Д.В. Жегловой, которая выделила его в 1967 г. из пораженной им культуры антракоида. Диагностические характеристики этого бактериофага были изучены недостаточно полно.

Цель настоящей работы – провести сравнительную оценку специфичности бактериофага «186» с коммерческими препаратами диагностических сибиреязвенных бактериофагов «Гамма А-26», «Fah – ВНИИВВиМ» и «R/D-Ph-6» и экспериментальными сериями бактериофагов «ВА-9», «К ВИЭВ», «Саратов».

**Материал и методы.** В опытах применялись коммерческие препараты бактериофагов: «Fah – ВНИИВВиМ» ( $1 \times 10^8$  БОЕ/см<sup>3</sup>, ГНУ ВНИИ ветеринарной вирусологии и микробиологии, г. Покров), «R/D-Ph-6» ( $1 \times 10^8$  БОЕ/см<sup>3</sup>) в виде фаг-тест набора «Оболонск R1» (ФГУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, г. Оболонск), «Гамма А-26» ( $2,2 \times 10^9$  БОЕ/см<sup>3</sup>, ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора). Экспериментальные серии бактериофагов «186» ( $2,5 \times 10^{10}$  БОЕ/см<sup>3</sup>), «ВА-9» ( $2,8 \times 10^9$  БОЕ/см<sup>3</sup>), «Саратов» ( $1,5 \times 10^{10}$  БОЕ/см<sup>3</sup>), «К ВИЭВ» ( $1,9 \times 10^8$  БОЕ/см<sup>3</sup>) были получены авторами в лаборатории сибирской язвы ФКУЗ Ставропольский противочумный ин-

ститут Роспотребнадзора в 2011 г. Спектр неспецифического литического действия изучался в условиях одного опыта для всех бактериофагов.

Оценку специфичности проводили с 74 штаммами представителей рода *Bacillus*, не относящихся к виду *B. anthracis*. Использовали 18 штаммов *Bacillus cereus*, 14 штаммов *Bacillus thuringiensis*, 15 штаммов *Bacillus subtilis*, 7 штаммов *Bacillus megaterium*, 1 штамм *Bacillus mesentericus*, 19 штаммов *Bacillus species (spp.)*. Контролем служил вакцинный штамм *B. anthracis* СТИ-1.

Специфичность выражали процентным отношением количества не лизировавшихся штаммов спорообразующих сапрофитов рода *Bacillus*, к общему количеству штаммов близкородственных бацилл, использованных в опыте (табл. 1).

Таблица 1

### Сравнительная характеристика специфичности сибиреязвенных бактериофагов

Бактериофаг	Кол-во штаммов бацилл отдельных видов, лизирующихся бактериофагом						Всего	Специфичность, %
	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus megaterium</i>	<i>Bacillus mesentericus</i>	<i>Bacillus species</i>		
«186»	0/18*	0/14	0/15	0/7	0/1	0/19	0/74	100
«R/D-Ph-6»	0/18	0/14	0/15	0/7	0/1	0/19	0/74	100
«Fah – ВНИИВВиМ»	0/18	0/14	0/15	0/7	0/1	0/19	0/74	100
«К ВИЭВ»	0/18	0/14	0/15	0/7	0/1	0/19	0/74	100
«Саратов»	0/18	0/14	0/15	0/7	0/1	0/19	0/74	100
«Гамма А-26»	0/18	0/14	3/15	2/7	0/1	0/19	5/74	93,2
«ВА-9»	0/18	0/14	3/15	2/7	0/1	1/19	6/74	91,9

\* 0/18 – количество лизирующихся штаммов/общее количество штаммов.

Чувствительность культур к бактериофагам определяли чашечным методом [3]. Результат оценивали визуально по четырехкрестовой системе. Полный лизис культуры на месте нанесения бактериофага оценивали на (++++)); наличие единичных колоний культуры на фоне зоны её лизиса в месте нанесения – на (+++), резкое ослабление роста – на (++)), наличие единичных негативных колоний бактериофага на фоне сплошного роста культуры – на (+), отсутствие лизиса – (-). Положительной считали пробу при оценке не менее чем на (+++).

**Результаты и обсуждение.** Результаты исследования показали, что сибиреязвенные бактериофаги «186», «К ВИЭВ» и «Саратов» из экспериментальных серий, а также коммерческие препараты бактериофагов «Fah – ВНИИВВиМ», «R/D-Ph-6» не вызывали лизиса штаммов спорообразующих сапрофитов рода *Bacillus* и обладали 100 % специфичностью. Проявления неспецифического лизиса наблюдались при действии

Головинская Татьяна Михайловна,  
научный сотрудник лаборатории сибирской язвы  
Ставропольского научно-исследовательского  
противочумного института;  
тел.: (8652)776274, 8(909)7622520; e-mail: anthraxlab@mail.ru

Цыганкова Ольга Ивановна,  
доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник  
лаборатории сибирской язвы Ставропольского научно-  
исследовательского противочумного института;  
тел.: (8652)776274, 8(909)7598064; e-mail: anthraxlab@mail.ru

Рязанова Алла Геннадиевна,  
кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией  
сибирской язвы Ставропольского научно-исследовательского  
противочумного института;  
тел.: (8652)776274, 8(909)7646158; e-mail: anthraxlab@mail.ru

Куличенко Александр Николаевич,  
доктор медицинских наук, профессор, директор  
Ставропольского научно-исследовательского  
противочумного института; тел.: (8652)260312

как коммерческого бактериофага «Гамма А-26», так и «ВА-9». Бактериофаг «Гамма А-26» лизировал 5 штаммов (6,8 %), а фаг «ВА-9» – 6 штаммов (8,1 %) из всех взятых в опыт несибиреязвенных культур (табл. 2). Лизис газонов культур исследуемых бацилл в зоне нанесения бактериофагов был выражен в разной степени. Спектры неспецифического литического действия бактериофагов «Гамма А-26» и «ВА-9» практически совпадали.

Таблица 2

**Лизис сибиреязвенными бактериофагами культур спорообразующих бацилл**

№ п/п	Вид и штамм микроорганизма	Лизис культур	
		Бактериофаг «Гамма А-26»	Бактериофаг «ВА-9»
1	2	3	4
<b><i>Bacillus subtilis</i></b>			
1	35	++++	++++
2	37	++++	+++
3	336	++++	++++
<b><i>Bacillus megaterium</i></b>			
4	1	+++	+++
5	2	++++	+++
<b><i>Bacillus species</i></b>			
6	689	–	+++

Обозначения:  
 (++++) – полный лизис культуры на месте нанесения бактериофага;  
 (+++ ) – наличие единичных колоний на фоне лизиса культуры;  
 (–) – отсутствие лизиса.

Полученные результаты свидетельствуют, что показатель специфичности бактериофага «186», определенный на представительной выборке близкородственных сапрофитов рода *Bacillus*, не уступает таковому высокоспецифических бактериофагов «Fah – ВНИИВВиМ», «R/D-Ph-6», «Саратов», «К ВИЭВ» и превосходит данный показатель бактериофагов «Гамма А-26» и «ВА-9». Исходя из этого представляется перспективным дальнейшее изучение основных биологических свойств бактериофага «186», определяющих возможность его использования в качестве

видоспецифического бактериофага для идентификации штаммов сибиреязвенного микроба, в первую очередь – специфической активности по отношению к штаммам *B. anthracis* с различиями в фенотипических свойствах.

Серьезной проблемой при использовании диагностических бактериофагов является отсутствие 100 %-ной специфичности и чувствительности. Поэтому на практике часто применяют комбинации бактериофагов.

**Заключение.** Полученные результаты позволяют рассматривать бактериофаг «186» в качестве дополнительного при лабораторной диагностике сибирской язвы.

**Литература**

1. Васильев, П.Г. Спектр литической активности видоспецифического сибиреязвенного бактериофага ФПГ / П.Г. Васильев, Л.И. Маринин, Р.Ш. Зиганшин [и др.] // Сб. тез. докл. конф. – Оболensk : ФГУН ГНУ ПМБ, 1999. – С. 33.
2. Ипатенко, Н.Г. Испытание сибиреязвенных бактериофагов К ВИЭВ и Гамма МВА / Н.Г. Ипатенко, А.А. Манычев, В.А. Седов, В.Н. Гуцин // Ветеринария. – 1989. – № 2. – С. 58–59.
3. Левина, Е.Н. Сравнительное изучение сибиреязвенных бактериофагов / Е.Н. Левина, В.Р. Архипова // ЖМЭИ. – 1967. – № 9. – С. 24–28.
4. Методические указания МУК 4.2.2413-08 «Лабораторная диагностика и обнаружение возбудителя сибирской язвы» – М., 2008.
5. Павлова, И.И. Изучение морфологических и биологических свойств фагов *Bacillus anthracis* и *Bacillus cereus*/ И.И. Павлова // ЖМЭИ. – 1971. – № 7. – С. 147.
6. Саяпина, Л.В. Характеристика нового бактериофага диагностического сибиреязвенного Гамма А-26 жидкого / Л.В. Саяпина, А.Е. Абдрашитова, И.В. Кашина и др. // Биопрепараты. – 2011. – Т. 41, № 1. – С. 36–39.
7. Цыганкова, О.И. Фенотипическая и генетическая вариабельность штаммов сибиреязвенного микроба (теоритические и практические аспекты) : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / Цыганкова О.И. – Ростов н/Д, 2007. – 38 с.

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ФАГОДИАГНОСТИКИ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ: ОЦЕНКА СПЕЦИФИЧНОСТИ БАКТЕРИОФАГА «186»**

Т. М. ГОЛОВИНСКАЯ, О. И. ЦЫГАНКОВА, А. Г. РЯЗАНОВА, А. Н. КУЛИЧЕНКО

Изучена специфичность диагностического сибиреязвенного бактериофага «186» на представительной выборке сапрофитов рода *Bacillus* в сравнении с коммерческими препаратами сибиреязвенных бактериофагов «Гамма А-26», «Fah», «R/D-Ph-6» и экспериментальными сериями бактериофагов «ВА-9», «К», «Саратов», применявшихся в лабораторной практике для идентификации *Bacillus anthracis*. Изученный бактериофаг «186», наряду с бактериофагами «Fah», «К», «R/D-Ph-6» и «Саратов», продемонстрировал 100 % специфичность литического действия; бактериофаги «Гамма А-26» и «ВА-9» – 93,2 и 91,9 % соответственно.

**Ключевые слова:** сибиреязвенные бактериофаги, спорообразующие сапрофиты, специфичность, лизис

**IMPROVEMENT OF ANTHRAX PHAGODIAGNOSTICS: EVALUATION OF BACTERIOPHAGE «186» SPECIFICITY**

GOLOVINSKAYA T. M., TSYGANKOVA O. I., RYAZANOVA A. G., KULICHENKO A. N.

The specificity of anthrax diagnostic bacteriophage «186» has been studied in a representative sample of saprophytes of the genus *Bacillus* in comparison with commercial specimen of anthrax bacteriophages «Gamma A-26», «Fah», «R/D-Ph-6» and experimental batches of bacteriophages «VA-9», «K», «Saratov» used for the identification of *Bacillus anthracis* in laboratory practice. The studied bacteriophage «186», as well as bacteriophages «Fah», «K», «R/D-Ph-6» and «Saratov», has shown 100 % specificity of lytic activity; bacteriophages «Gamma A-26» and «VA-9» – 93,2 % and 91,9 % respectively.

**Key words:** anthrax bacteriophages, spore-forming saprophytes, specificity, lysis