

Вариант сибиреязвенного вакцинного штамма СТИ-1 с гемолитической и лецитиназной активностями

Л.И.Маринин, Н.А.Шишкова, Е.А.Тюрин, А.Н.Мокриевич, И.А.Дятлов

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Проблема специфической профилактики сибирской язвы является чрезвычайно актуальной. Существующие живые и химические вакцины не создают иммунитета против некоторых штаммов *Bacillus anthracis*, циркулирующих в природе и выделенных от людей. В связи с этим задача совершенствования противосибиреязвенных вакцин остается актуальной для медицинской и ветеринарной практики, ведется постоянный поиск новых средств специфической профилактики сибирской язвы. В качестве одного из путей создания сибиреязвенных вакцин является введение в вакцинные штаммы дополнительных генетических детерминант, повышающих иммуногенность. С этой целью в клетки вакцинного штамма СТИ-1 проклонировали оперон *Bacillus cereus* (штамм ВКМ-В164), обеспечивающий гемолитическую и лецитиназную активности этого микроорганизма за счет синтеза секретируемых ферментов – сфингомиелиназы (Sph) и фосфолипазы C (plc). Был получен вариант вакцинного штамма СТИ-1рОВ12, обладающий высокой иммуногенностью, гемолитической и лецитиназной активностями, способный расти на среде с эритромицином. Вариант может быть использован для профилактики при заражении «вакцинорезистентными» штаммами возбудителя сибирской язвы.

Ключевые слова: *Bacillus anthracis*, сибирская язва, вакцины, профилактика, штаммы

Для цитирования: Маринин Л.И., Шишкова Н.А., Тюрин Е.А., Мокриевич А.Н., Дятлов И.А. Вариант сибиреязвенного вакцинного штамма СТИ-1 с гемолитической и лецитиназной активностями. Бактериология. 2023; 8(1): 23–29. DOI: 10.20953/2500-1027-2023-1-23-29

A variant of the vaccine strain *Bacillus anthracis* STI-1 with hemolytic and lecithinase activities

L.I.Marinin, N.A.Shishkova, E.A.Tyurin, A.N.Mokrievich, I.A.Dyatlov

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

The problem of specific prophylaxis of anthrax is extremely urgent. Existing live and chemical vaccines do not provide immunity against some strains of *Bacillus anthracis* circulating in nature and isolated from humans. In this regard, the task of improving anthrax vaccines remains relevant for medical and veterinary practice, and there is a constant search for new means of specific prophylaxis of anthrax. One of the ways to create anthrax vaccines is to introduce additional genetic determinants that increase immunogenicity into vaccine strains. For this purpose, the *Bacillus cereus* operon (strain VKM-B164), was cloned into the cells of the vaccine strain STI-1. As a result, the microorganism has acquired hemolytic and lecithinase activities due to the synthesis of secreted enzymes – sphingomyelinase (Sph) and phospholipase C (plc). A variant of the vaccine strain STI-1рОВ12 was obtained, which has high immunogenicity, hemolytic and lecithinase activities. Also the strain was capable to grow on a medium with erythromycin. The variant can be used for prophylaxis in case of infection with «vaccine-resistant» strains of the anthrax pathogen.

Key words: *Bacillus anthracis*, anthrax, vaccines, prevention, strains

For citation: Marinin L.I., Shishkova N.A., Tyurin E.A., Mokrievich A.N., Dyatlov I.A. A variant of the vaccine strain *Bacillus anthracis* STI-1 with hemolytic and lecithinase activities. Bacteriology. 2023; 8(1): 23–29. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2023-1-23-29

Для корреспонденции:

Маринин Леонид Иванович, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологии сибирской язвы отдела особо опасных инфекций ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0003

Статья поступила 22.03.2023, принята к печати 28.04.2023

For correspondence:

Leonid I. Marinin, MD, PhD, Leading Researcher, Laboratory of Anthrax Microbiology, Department of Particularly Dangerous Infections, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0003

The article was received 22.03.2023, accepted for publication 28.04.2023

Несмотря на статистическое снижение заболеваемости, ежегодно практически во всех странах мира среди животных и людей регистрируются случаи сибирской язвы, в том числе со смертельными исходами, что позволяет считать ее по-прежнему опасной инфекцией. Для профилактики сибирской язвы в России более 60 лет используется вакцина на основе живой аттенуированной культуры *Bacillus anthracis* бескапсульного штамма СТИ-1. Многолетние наблюдения показали стабильность основных свойств вакцинного штамма СТИ-1. Однако в настоящее время требования к вакцине возросли, и она перестала удовлетворять нужды эпидемиологов. В частности, появились сведения о недостаточной эффективности существующей живой вакцины СТИ. По данным эпидемиологического опыта, коэффициент эпидемиологической эффективности однократной скарификационной прививки людей вакциной СТИ составил 36,7% [1, 2]. Даже двукратная скарификационная вакцинация создает иммунитет через 20–30 дней лишь у 70% привитых людей, и были зарегистрированы случаи сибирской язвы среди таких контингентов [3–6]. Недостаточная эффективность вакцины СТИ связана с длительным латентным периодом и периодом нарастания (до 3–4 нед.) а также относительно коротким периодом высокой специфической резистентности, что проявляется «пробоем» иммунитета в первые 5–14 суток и через 3 мес. после иммунизации. Указанные недостатки обусловлены тем, что формирование поствакцинального иммунитета после введения живой вакцины связано с колонизацией, размножением и последующей диссеминацией по лимфатическим путям клеток вакцинного штамма. Наряду с этим живая вакцина обеспечивает формирование специфического иммунитета, воздействующего в первую очередь на начальные этапы инфекции (антибактериальный иммунитет), и в случае генерализации процесса недостаточно эффективно предотвращает токсические эффекты, наблюдаемые на заключительной стадии заболевания [7, 8].

Кроме этого, в последние годы из-за активной миграции и интенсификации сельского хозяйства возрос риск встречи с высоковирулентными природными штаммами, против которых защита существующей вакцины неэффективна. Существующие живые и химические вакцины не создают иммунитета против некоторых штаммов *B. anthracis*, циркулирующих в природе и выделенных от людей [9–16]. Установлено, что вакцины на основе штаммов СТИ-1, №55 ВНИИВВиМ, 228/8, 34F2 Sterne и 1190-R не создавали иммунитета против 9 вирулентных штаммов. Подобные вирулентные штаммы получили название «вакцинорезистентных».

С учетом этого задача совершенствования противосибиреязвенных вакцин остается актуальной для медицинской и ветеринарной практики, ведется постоянный поиск новых средств специфической профилактики сибирской язвы [17–23].

Нужны новые подходы к поиску более эффективных вакцинных штаммов, к которым можно отнести создание штаммов с дополнительными антигенными детерминантами, не свойственными традиционным штаммам.

Идеальная вакцина должна быть безопасной, высокоэффективной и при однократном введении обеспечивать пожизненный иммунитет у 100% привитых [24]. Однако таких вакцин пока не существует.

Анализ публикаций на тему противосибиреязвенных препаратов показывает, что постоянно ведутся работы по созданию новых высокоэффективных и безопасных вакцин против сибирской язвы.

В качестве одного из путей создания сибиреязвенных вакцин является введение в вакцинные штаммы дополнительных генетических детерминант, повышающих иммуногенность. Значительный интерес представляет сообщение Цыганковой О.И. с сотр. [25–27] о неоднородности клеточного состава вакцинного штамма СТИ-1 по содержанию вариантов с различной гемолитической и лецитиназной активностями. При исследовании гемолитической активности вакцинного штамма *B. anthracis* СТИ-1 было выявлено два варианта особенностей морфологии колоний:

- вариант I: крупные (3–5 мм), плоские, матовые, шероховатые колонии с крупными сглаженными завитками на поверхности и пологим краем, не лизируют эритроциты барана;
- вариант II: мелкие (до 2,5 мм), выпуклые, блестящие, с четким краем колонии с мелкими крутыми завитками на поверхности, с широкой зоной лизиса (2–8 мм) через 18–24 ч выращивания на среде с эритроцитами барана [27].

В экспериментах на морских свинках была изучена иммунологическая эффективность исходной вакцины и полученных вариантов. Индекс иммунитета у животных, иммунизированных спорами культуры варианта II, был на порядок выше, чем у животных, иммунизированных спорами варианта I [27].

Цель работы: получение варианта сибиреязвенного вакцинного штамма СТИ-1, обладающего гемолитической и лецитиназной активностями и высокой эффективностью.

Материалы и методы

Оперон *B. cereus* проклонировали в клетки вакцинного штамма СТИ-1 по ранее разработанной методике [28].

В работе использовали штаммы *B. anthracis* Ч-7, 81/1, 3-706, СТИ-1 и 71/12 (второй вакцины Ценковского), №55 ВНИИВВиМ, *B. cereus* ВКМ-В164 из музейной коллекции «ГКПМ-Оболensk».

Биологические, биохимические свойства штаммов СТИ-1рОВ12 в сравнении с исходным штаммом СТИ-1 определяли по существующим методикам [29].

Остаточную вирулентность определяли на беспородных белых мышах.

Безвредность штамма СТИ-1рОВ12 определяли на морских свинках [30].

С целью изучения патоморфологических и гистологических изменений, вызываемых у морских свинок введением 50×10^6 спор штамма СТИ-1рОВ12, животных умерщвляли на 1, 3, 8, 15 и 30-е сутки [30].

С целью определения иммунной перестройки организма использовали кожно-аллергическую пробу с антраксином, которую выполняли по существующей методике на морских свинках через 10 и 20 дней после подкожного введения спорных культур вакцинных штаммов в дозах по 50×10^6 спор [29].

Сероконверсию у иммунизированных кроликов определяли по уровню превентивных свойств сыворотки (ПСС) [29].

Иммунологическую эффективность штаммов СТИ-1рОВ12 и СТИ-1 оценивали по устойчивости вакцинированных морских свинок, золотистых хомячков и кроликов к заражению разными дозами вирулентной культуры возбудителя сибирской язвы. По результатам рассчитывали показатели LD₅₀ и иммунный индекс [29–31].

Результаты и обсуждение

В клетки вакцинного штамма СТИ-1 проклонировали оперон *B. cereus* (штамм ВКМ-В164), обеспечивающий гемолитическую и лецитиназную активности этого микроорганизма за счет синтеза секретируемых ферментов – сфингомиелиназы (Sph) и фосфолипазы С (plc) [32, 33]. Фосфолипазы С обычно являются экзогенными бактериальными ферментами. Известно, что некоторые из бактериальных фосфолипаз являются гемолизинами [33].

Рекомбинантную плазмиду рОВ12, несущую гены Sph и plc, ввели в клетки СТИ-1 методом электропорации. Интеграцию плазмиды с геномом микробной клетки осуществили путем пассирования полученных эритромицинрезистентных клонов в непермиссивных для репликона рЕ194 условиях. При этом показали, что плаزمида рОВ12 в составе генома СТИ-1 находится в автономном состоянии. Полученный вариант СТИ-1рОВ12 (СТИ-5 или ПМС-5) в отличие от исходного штамма приобрел гемолитическую и лецитиназную активности.

На рис. 1 представлены результаты высева единичных колоний штамма СТИ-1рОВ12 на питательные среды, содержащие кровь или лецитин.

Следует отметить, что зона гемолиза наблюдается у каждой колонии, то есть культура однородна по признаку гемолитической активности. Такая же картина наблюдается при высеве штамма на среду с лецитином.

Результаты выделения и исследования белков штамма СТИ-1рОВ12 показали, что лецитиназной активностью обладали фракции, содержащие белок с молекулярной массой 35 кДа, в то время как лецитиназной и гемолитической активностями обладали фракции, где наряду с указанным белком находились минорные белки с молекулярными массами 28 и 29 кДа.

По культурально-морфологическим свойствам штамм СТИ-1, наследующий плазмиду рОВ12, не отличался от исходного штамма. В окрашенных по Граму мазках наблюдали грамположительные палочки с обрубленными концами, оди-



Рис. 1. Гемолитическая и лецитиназная активности штамма СТИ-1рОВ12.

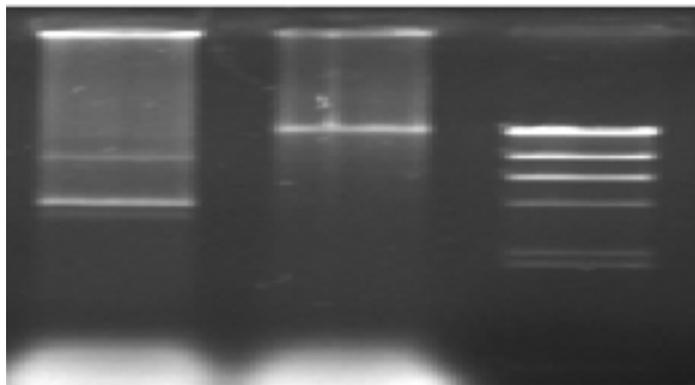


Рис. 2. Элетрофореграмма ДНК из штаммов СТИ-1рОВ12 и СТИ 1. 1 – ДНК штамма СТИ-1рОВ12. 2 – ДНК штамма СТИ-1. 3 – ДНК фага λ /HindIII.

ночные, парные, собранные в цепочки. На плотной питательной среде из триптического гидролизата рыбной муки вырастали плоские шероховатые матовые колонии R-формы с неровными краями. Через 6 суток выращивания на плотной питательной среде в 80–90% клеток образовывались центрально расположенные овоидные споры, окрашивающиеся по Цилю–Нильсену в розовый цвет. В жидкой питательной среде рост в виде «комка ваты» на дне сосуда, без помутнения среды и пленки. В организме и на специальных питательных средах капсулы не образуются.

Отличительными признаками штамма СТИ-1рОВ12 являются резистентность к эритромицину, наличие гемолитической и лецитиназной активностей, а также пониженная скорость спорообразования.

С целью изучения стабильности наследования плазмиды рОВ12 была выделена ДНК. Результаты исследования ДНК представлены на рис. 2.

На представленной элетрофореграмме видно, что штамм СТИ-1рОВ12 содержит в автономном состоянии плазмиду рОВ12 размером около 4000 п.о.

Штамм СТИ-1рОВ12 при проверке полноценности и стабильности детерминант капсулообразования (cap) и токсинообразования (pag, lef, суа) методом полимеразной цепной реакции не отличался от исходного штамма СТИ-1.

Оценку безвредности и иммуногенности штамма СТИ-1рОВ12 провели в сравнении с вакцинным штаммом СТИ-1 по показателю вирулентности и вызываемым патоморфологическим изменениям у животных.

Исследования показали, что остаточная вирулентность полученного штамма оказалась одинаковой с исходным штаммом СТИ-1: величины LD₅₀ составили $6,8 \times 10^5$ ($4,3 \times 10^4$ – $8,2 \times 10^6$) и $1,2 \times 10^5$ ($3,8 \times 10^4$ – $7,8 \times 10^6$) спор соответственно.

Безвредность штамма СТИ-1рОВ12 определили на морских свинках, которым под кожу бедра ввели по 50×10^5 спор в объеме 0,5 см³. За животными наблюдали в течение 30 сут. Клинические проявления на подкожное введение микробных клеток характеризовались развитием геморрагических отеков в паховой области (в месте введения спор) у 25–32% животных. До 30% морских свинок погибало через 4–9 суток после аппликации культуры.

С целью изучения патоморфологических и гистологических изменений, вызываемых у морских свинок введением

50 × 10⁶ спор штамма СТИ-1рОВ12, животных умерщвляли на 1, 3, 8, 15 и 30-е сутки.

Патоморфологические исследования показали, что в ответ на введение животным споровой культуры аттенуированного штамма СТИ-1рОВ12 в организме развивались типичные для вакцинального процесса проявления, носившие обратимый характер. Следует отметить, что наблюдаемые нами изменения в организме практически не отличались от описанных ранее в ответ на введение вакцинного штамма СТИ-1 [34].

Основным показателем аттенуированных штаммов, перспективных в качестве вакцинных, является их иммуногенность. Иммунологическую эффективность полученного штамма СТИ-1рОВ12 в сравнении с исходным штаммом СТИ-1 оценивали по характеру иммунной перестройки организма морских свинок и по устойчивости вакцинированных морских свинок, золотистых хомячков и кроликов к заражению вирулентной культурой возбудителя сибирской язвы.

С целью определения иммунной перестройки организма использовали кожно-аллергическую пробу с антраксином, которую выполняли по существующей методике на морских свинках через 10 и 20 дней после подкожного введения спорных культур вакцинных штаммов в дозах по 50 × 10⁶ спор. Наблюдения показали, что штамм СТИ-1рОВ12 вызывал иммуно–аллергическую перестройку организма морских свинок в такой же степени, как и вакцина на основе штамма СТИ-1. Если через 10 суток кожно-аллергическая проба была положительной у 70–80% животных, то через 20 суток – у 90–100%.

Качественную оценку иммуногенности провели на морских свинках, вакцинированных споровой культурой штам-

мов СТИ-1рОВ12 или СТИ-1 в дозах по 50 × 10⁶ спор и зараженных через 3 нед. споровой культурой штамма 71/12 (второй вакцины Ценковского) в дозе 1 × 10⁶ спор. Исследования показали, что из числа морских свинок, иммунизированных штаммом СТИ-1рОВ12, погибло до 10% животных, а привитых вакциной СТИ – до 40% при гибели всех контрольных (неиммунизированных) животных.

Количественную оценку иммуногенности провели на морских свинках, привитых штаммами СТИ-1рОВ12 или СТИ-1 в дозах по 1 × 10⁶ спор. Через 3 нед. привитых и интактных животных заразили подкожно разными дозами споровой культуры штамма 71/12 второй вакцины Ценковского. Через 10 суток наблюдения на основании количества погибших животных рассчитали величины LD₅₀ в опытных и контрольной группах и по их соотношению определили индекс иммунитета.

Результаты испытаний показали, что штамм СТИ-1рОВ12 по иммунному индексу несколько превосходит штамм СТИ-1 (5700 и 3700 соответственно).

В эксперименте на хомячках оценили эффективность иммунизации различными вакцинными штаммами СТИ-1рОВ12, СТИ-1 и №55 ВНИИВВиМ. Животным подкожно вводили по 1 × 10⁸ спор в объеме 0,5 см³. Через две недели привитых и интактных животных заразили подкожным введением разных доз споровой культуры вирулентных штаммов 81/1 или 3-706. По результатам заражения рассчитали величины LD₅₀ и индекс иммунитета. Полученные результаты приведены в табл. 1.

Эксперименты на хомячках показали высокую иммунологическую эффективность штамма СТИ-1рОВ12, находящуюся на одном уровне с вакцинными штаммами СТИ-1 и №55 ВНИИВВиМ.

В опытах на кроликах оценили серологические сдвиги и устойчивость к заражению возбудителем сибирской язвы после однократного подкожного введения 1 × 10⁸ спор штамма СТИ-1рОВ12, а также вакцинных штаммов СТИ-1 или №55 ВНИИВВиМ. Сероконверсию у иммунизированных животных определяли по уровню ПСС. Показатели ПСС вне зависимости от вакцинного штамма составили 70–80%. На 22-е сутки вакцинированных и интактных кроликов заразили подкожно разными дозами спорных культур вирулентных штаммов 81/1 или 3-706. По результатам гибели животных при 10-суточном наблюдении рассчитали величины LD₅₀ и иммунного индекса (табл. 2).

Полученные результаты свидетельствуют о высокой иммунологической эффективности штамма СТИ-1рОВ12.

Проведенные исследования показали, что придание штамму СТИ-1 дополнительных признаков гемолитической и лецитиназной активностей *B. cereus* изменило иммуногенные свойства. Вакцинный штамм СТИ-1рОВ12 защищал от заражения вирулентными штаммами 81/1, Ч-7 или 3-706 в большей степени, чем штамм СТИ-1. Следует отметить, что вакцинный штамм *B. anthracis* СТИ-1рОВ12 защитил от заражения вирулентным вакцинорезистентным штаммом *B. anthracis* Ч-7SphPlcEr.

Увеличение иммуногенности штамма СТИ-1рОВ12 можно, по-видимому, объяснить приобретением клетками нового свойства – повышения приживляемости в результате «разрыхляющего» действия сфингомиелиназы и фосфолипазы на фосфолипидные мембраны эукариотических клеток.

Таблица 1. Иммунологическая эффективность варианта вакцинного штамма СТИ-1рОВ12 в опытах на хомячках

Вакцинные штаммы (вакцинация)	Вирулентные штаммы (заражение)	Величины LD ₅₀ , спор	Индекс иммунитета
СТИ-1рОВ12	81/1	1480 ± 300	296
СТИ-1рОВ12	3-706	3800 ± 600	422
СТИ-1	81/1	1610 ± 300	322
СТИ-1	3-706	170 ± 5	19
№55 ВНИИВВиМ	81/1	1450 ± 270	290
Не вакцинированные	81/1	5 ± 3	-
Не вакцинированные	3-706	9 ± 4	-

Таблица 2. Иммунологическая эффективность варианта вакцинного штамма СТИ-1рОВ12 в опытах на кроликах

Вакцинные штаммы (вакцинация)	Вирулентные штаммы (заражение)	Величины LD ₅₀ , спор	Индекс иммунитета
СТИ-1рОВ12	81/1	10660 ± 400	130
СТИ-1рОВ12	3-706	15904 ± 800	142
СТИ-1	81/1	7790 ± 550	95
СТИ-1	3-706	9184 ± 1200	82
№55 ВНИИВВиМ	81/1	8870 ± 630	108
Не вакцинированные	81/1	82 ± 5	-
Не вакцинированные	3-706	112 ± 11	-

После хранения споровой культуры в 30%-м растворе глицерина в течение 18 лет были изучены свойства штамма СТИ-1рОВ12, в том числе устойчивость к эритромицину; гемолитическая и лецитиназная активности. Было показано, что длительное хранение не оказало влияния на основные свойства штамма.

Заключение

В ГНЦ ПМБ получен вариант вакцинного штамма *B. anthracis* СТИ-1рОВ12, отличающийся от исходного штамма СТИ-1 повышенной иммуногенностью, приобретением гемолитической и лецитиназной активностей, способностью расти на среде с эритромицином. Штамм СТИ-1рОВ12 депонирован в Коллекции «ГКПМ-Оболensk» под номером В-7214.

Штамм является перспективным для профилактики сибирской язвы при возможном инфицировании возбудителем, обладающим повышенной вирулентностью.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Financial support

The work was carried out within the framework of the sectorial program of Rosпотребнадзор.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Литература

- Бургасов ПН, Черкасский БЛ, Кноп АГ, и др. Предварительные данные об иммунологической эффективности вакцины СТИ (по материалам контролируемого эпидемиологического опыта). В сб.: Вопросы эффективности противосибирезвеновых мероприятий. Матер. Всесоюз. науч. симпозиума IX Пленарного заседания междуведомств. научно-методич. комиссии по борьбе с сибирской язвой. М., 1974, с. 84-85.
- Бургасов ПН, Черкасский БЛ, Кноп АГ, Утегенов КА. Эпидемиологическая эффективность сибирезвеновой вакцины СТИ. Журнал микробиологии. 1976;9:27-35.
- Абалакин ВА. Закономерности врожденного и приобретенного иммунитета против сибирской язвы. Дисс. ... докт. мед. наук. М., 1990, 360 с.
- Марчук ЛМ, Черкасский БЛ. О заболеваемости сибирской язвой людей, привитых вакциной СТИ. В сб.: Актуальные вопросы профилактики сибирской язвы в СССР: Материалы VII Пленарного засед. Междуведомств. комиссии по борьбе с сибирской язвой. М., 1971, с. 95-97.
- Сергеева ЛВ. О заболеваемости сибирской язвой среди привитых против нее людей. Сб. науч. трудов Московского НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова. М., 1981, с. 173-6.
- Сергеева ЛВ. Пути совершенствования вакцинопрофилактики сибирской язвы у людей. Дисс. ... канд. мед. наук. М., 1982, 148 с.
- Садовой НВ. Конструирование и изучение основных свойств комбинированной вакцины против сибирской язвы в экспериментальных условиях и в наблюдениях на добровольцах. Тез. докл. Межвед. науч. конф. «Актуальные вопросы профилактики опасных инфекционных заболеваний». Киров, 1991, с. 97-99.
- Садовой НВ, Кравец ИД, Селиваненко ГН, и др. Вакцина сибирезвеновая комбинированная. Патент 2115433 RU, 1998.
- Бакулов ИА, Гаврилов ВА, Селиверстов ВВ. Сибирская язва (Антракс): Новые страницы в изучении «старой» болезни. Владимир: «Посад»; 2001, 284 с.
- Буравцева НП, Фунтикова ТН, Цыганкова ОИ, Проскурина ВА. Сравнительная характеристика иммуногенности и безвредности живых сибирезвеновых вакцин. Матер. научно-практич. конф., посвящ. 100-летию образования противочум. Службы в России. Т. 2. Саратов, 1997, с. 248.
- Гаврилов ВА. Сравнительное изучение биологических свойств вакцинных и эпизоотических штаммов *Bacillus anthracis*, выделенных на территории СССР. Дисс. ... канд. биол. наук. Покров: ВНИИВВиМ; 1974, 115 с.
- Ипатенко НГ, Гаврилов ВА, Маничев АА, и др. Опыт профилактики сибирской язвы сельскохозяйственных животных в России. Ветеринария. 1995;5:27-30.
- Auerbach S, Wright GG. Studies on immunity in anthrax. VI. Immunizing activity of protective antigen against various strains of *Bacillus anthracis*. J Immunol. 1955 Aug;75(2):129-33
- Brossier F, Levy M, Mock M. Anthrax spores make an essential contribution to vaccine efficacy. Infect Immun. 2002 Feb;70(2):661-4. DOI: 10.1128/IAI.70.2.661-664.2002
- Little SF, Knudson GB, Neidhardt FC. Immunizing activity of anthrax vaccines against aberrant strains of *B. anthracis*. ASM, Washington. Abst Ann Meet Amer Soc Microbiol. 1984, 46 p.
- Ward MK, McGann VG, Hogge AL Jr, Huff ML, Kanode RG Jr, Roberts EO. Studies on anthrax infections in immunized guinea pigs. J Infect Dis. 1965 Feb;115:59-67. DOI: 10.1093/infdis/115.1.59
- Лукьянова СВ, Кравец ЕВ, Шкаруба ТТ. Сибирезвеновые вакцины и перспективы их совершенствования. Инфекционные болезни. 2011;9(1):51-6.
- Онищенко ГГ. Актуальные проблемы профилактики инфекционных болезней на современном этапе. Журнал микробиологии. 2010;4:13-22.
- Онищенко ГГ, Кожухов ВВ, Васильев НТ, и др. Сибирская язва: актуальные проблемы разработки и внедрения медицинских средств защиты. Под ред. Онищенко ГГ, Кожухова ВВ. М.: Медицина; 2010, 424 с.
- Пименов ЕВ, Дармов ИВ, Васильев НТ, и др. Состояние вопроса и перспективы разработки вакцин против сибирской язвы. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2002;5:42-6.
- Turnbull PC. Anthrax vaccines: past, present and future. Vaccine. 1991 Aug;9(8):533-9. DOI: 10.1016/0264-410x(91)90237-z.
- Turnbull PC. Current status of immunization against anthrax: old vaccines may be here to stay for a while. Curr Opin Infect Dis. 2000 Apr;13(2):113-120. DOI: 10.1097/00001432-200004000-00004
- Wang JY, Roehrl MH. Anthrax vaccine design: strategies to achieve comprehensive protection against spore, bacillus, and toxin. Med Immunol. 2005 Mar 24;4(1):4. DOI: 10.1186/1476-9433-4-4
- Медуницын НВ. Лечебные вакцины. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2002;3-4:25-7.
- Фунтикова ТН, Цыганкова ОИ, Еременко ЕИ, Буравцева НП. Способ отбора культур сибирезвеновых вакцинных штаммов и изготовленных из них вакцин. Заявка на изобретение 95119623/13 21.11.1995. Опубликовано 20.12.1998.
- Цыганкова ОИ. Гемолитическая и протеолитическая активность сибирезвенового микроба. Дисс. ... канд. мед. наук. Саратов, 1993, 179 с.
- Цыганкова ОИ, Фунтикова ТН, Буравцева НП, Еременко ЕИ. Изучение некоторых свойств субкультур сибирезвенового вакцинного штамма СТИ-1 *in vitro*. В сб.: Иммунология и специфическая профилактика особо опасных инфекций. Матер. Росс. науч. конф. Саратов, 1993, 192 с.
- Pomerantsev AP, Staritsin NA, Mockov YuV, Marinin LI. Expression of cereolysine AB genes in *Bacillus anthracis* vaccine strain ensures protection against

- experimental hemolytic anthrax infection. *Vaccine*. 1997 Dec;15(17-18):1846-50. DOI: 10.1016/s0264-410x(97)00132-1
29. Маринин ЛИ, Дятлов ИА, Мокриевич АН, и др. Методы изучения биологических и молекулярно-генетических свойств возбудителя сибирской язвы. Под ред. Дятлова ИА. Москва: Издательство «Династия»; 2021, 240 с.
 30. Основные требования к вакцинным штаммам сибиреязвенного микроба для иммунизации людей: Методические указания. М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России; 2002, 47 с.
 31. Ашмарин ИП, Воробьев АА. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л.: Медгиз; 1962, 180 с.
 32. Гавриленко ИВ, Байда ГЕ, Карпов АВ, Кузьмин НП. Нуклеотидная последовательность *Bacillus anthracis* генов фосфолипазы и сфингомиелидазы *Bacillus cereus* VKM-B164. *Биоорганическая химия*. 1993;19(1):133-8.
 33. Сазыкин ИС, Кузьмин НП. Клонирование области генов фосфолипазы С и сфингомиелиназы антракоидной группы рода *Bacillus*. Эпидемиология, микробиология и иммунология бактериальных и вирусных инфекций. Тез. докл. Областной науч. конф. молодых ученых. Ростов-на-Дону, 1989, с. 150-2.
 34. Чалисов ИА, Тамарин АЛ. Патоморфология и бактериология иммунизаторного процесса при сибиреязвенной вакцине СТИ. Сб. работ НИИЭГ Красной Армии, 1946, с. 114-141.
 12. Ipatenko NG, Gavrilo V A, Manichev AA, et al. Experience in the prevention of anthrax of farm animals in Russia. *Veterinariya*. 1995;5:27-30. (In Russian).
 13. Auerbach S, Wright GG. Studies on immunity in anthrax. VI. Immunizing activity of protective antigen against various strains of *Bacillus anthracis*. *J Immunol*. 1955 Aug;75(2):129-33
 14. Brossier F, Levy M, Mock M. Anthrax spores make an essential contribution to vaccine efficacy. *Infect Immun*. 2002 Feb;70(2):661-4. DOI: 10.1128/IAI.70.2.661-664.2002
 15. Little SF, Knudson GB, Neidhardt FC. Immunizing activity of anthrax vaccines against aberrant strains of *B. anthracis*. ASM, Washington. Abst Ann Meet Amer Soc Microbiol. 1984, 46 p.
 16. Ward MK, McGann VG, Hogge AL Jr, Huff ML, Kanode RG Jr, Roberts EO. Studies on anthrax infections in immunized guinea pigs. *J Infect Dis*. 1965 Feb;115:59-67. DOI: 10.1093/infdis/115.1.59
 17. Lukyanova SV, Kravets EV, Shkaruba TT. Anthrax vaccines and potential for their improvement. *Infekc. bolezni (Infectious Diseases)*. 2011;9(1):51-6. (In Russian).
 18. Onishchenko GG. Actual problems of prevention of infectious diseases at the present stage. *Journal of Microbiology*. 2010;4:13-22. (In Russian).
 19. Onishchenko GG, Kozhukhov BB, Vasiliev NT, et al. Anthrax: actual problems of development and implementation of medical protective equipment. Edited by Onishchenko GG, Kozhukhov VV. Moscow: "Medicine" Publ.; 2010, 424 p. (In Russian).
 20. Pimenov EV, Darmov IV, Vasiliev NT, et al. The state of the issue and prospects for the development of anthrax vaccines. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2002;5:42-6. (In Russian).
 21. Turnbull PC. Anthrax vaccines: past, present and future. *Vaccine*. 1991 Aug;9(8):533-9. DOI: 10.1016/0264-410x(91)90237-z.
 22. Turnbull PC. Current status of immunization against anthrax: old vaccines may be here to stay for a while. *Curr Opin Infect Dis*. 2000 Apr;13(2):113-120. DOI: 10.1097/00001432-200004000-00004
 23. Wang JY, Roehrl MH. Anthrax vaccine design: strategies to achieve comprehensive protection against spore, bacillus, and toxin. *Med Immunol*. 2005 Mar 24;4(1):4. DOI: 10.1186/1476-9433-4-4
 24. Medunitsyn NV. Therapeutic vaccines. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2002;3-4:25-7. (In Russian).
 25. Funtikova TN., Tsygankova OI, Eremenko EI, Buravtseva NP. A method for selecting cultures of anthrax vaccine strains and vaccines made from them. Application for invention 95119623/13 21.11.1995. Published on 20.12.1998. (In Russian).
 26. Tsygankova OI. Hemolytic and proteolytic activity of the anthrax microbe. Diss. Saratov, 1993, 179 p. (In Russian).
 27. Tsygankova O I, Funtikova TN, Buravtseva NP, Eremenko EI. Study of some properties of subcultures of the anthrax vaccine strain STI-1 *in vitro*. In: Immunology and specific prevention of particularly dangerous infections. Proceedings of Russian Scientific Conference. Saratov, 1993, 192 p. (In Russian).
 28. Pomerantsev AP, Staritsin NA, Mockov YuV, Marinin LI. Expression of cereolysine AB genes in *Bacillus anthracis* vaccine strain ensures protection against experimental hemolytic anthrax infection. *Vaccine*. 1997 Dec;15(17-18):1846-50. DOI: 10.1016/s0264-410x(97)00132-1
 29. Marinin LI, Dyatlov IA, Mokrievich AN, et al. Methods of studying the biological and molecular genetic properties of the causative agent of anthrax. Edited by Dyatlov IA. Moscow: Publishing House "Dynasty"; 2021, 240 p. (In Russian).
 30. Basic requirements for vaccine strains of anthrax microbe for human immunization: Guidelines. Moscow: Federal Center of State Sanitary and Epidemiological Supervision of the Ministry of Health of the Russian Federation; 2002, 47 p. (In Russian).
 31. Ashmarin IP, Vorobyov AA. Statistical methods in microbiological research. L.: "Medgiz" Publ.; 1962, 180 p. (In Russian).
 32. Gavrilenko And V, Bayda GE, Karpov AV, Kuzmin NP. The nucleotide sequence of *Bacillus anthracis* phospholipase and sphingomyelidase genes of *Bacillus cereus* VKM-B164. *Biomeditsinskaya Khimiya*. 1993;19(1):133-8. (In Russian).

References

33. Sazykin IS, Kuzmin NP. Cloning of the region of phospholipase C and sphingomyelinase genes of the anthracoid group of the genus *Bacillus*. *Epidemiology, microbiology and immunology of bacterial and viral infections*. Proceedings of Regional Scientific Conference of Young scientists. Rostov-on-Don, 1989, pp. 150-2. (In Russian).
34. Chalisov IA, Tamarin AL. Pathomorphology and bacteriology of the immunizing process with anthrax vaccine STI. *Proceedings of the NIEG of the Red Army*, 1946, pp. 114-141. (In Russian).

Информация о соавторах:

Шишкова Нина Андреевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологии сибирской язвы отдела особо опасных инфекций ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Тюрин Евгений Александрович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, ведущий научный сотрудник лаборатории биологической безопасности ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Мокриевич Александр Николаевич, доктор медицинских наук, заведующий отделом особо опасных инфекций ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Дятлов Иван Алексеевич, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Information about co-authors:

Nina A. Shishkova, PhD (Biological Sciences), Leading Researcher Laboratory of Anthrax Microbiology Department of Particularly Dangerous Infections, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзора

Eugene A. Tyurin, MD, PhD, Leading Researcher of the Laboratory of Biological Safety, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзора

Alexander N. Mokrievich, MD, PhD, DSc, Head of the Department of Highly Dangerous Infections, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзора

Ivan A. Dyatlov, Academician of RAS, MD, PhD, DSc, Professor, Director of the State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзора

НОВОСТИ НАУКИ

Синтезированы аналоги нового антибиотика

Последнее исследование группы профессора Сатоши Итикава из Университета Хоккайдо, опубликованное в журнале *Nature Communications*, подробно описывает разработку высокоэффективного антибактериального соединения, эффективного против наиболее распространенных бактерий с множественной лекарственной устойчивостью.

Ученые работали над сферимицинами. Эти соединения блокируют функцию белка MraY в бактериях, необходимого для репликации и играющего роль в синтезе бактериальной клеточной стенки. Он также не является мишенью для доступных в настоящее время коммерческих антибиотиков.

Сферимицины имеют очень сложную структуру, поэтому решили разработать аналоги этой молекулы, которые были бы проще в производстве, а также становились бы более эффективными против MraY, тем самым повышалась бы их антибактериальная активность. Разработанный препарат был эффективен против метициллин-резистентного золотистого стафилококка (MRSA) и ванкомицин-резистентного *Enterococcus faecium* (VRE).

Команда проанализировала структуры сферимицина А с помощью молекулярного моделирования, а также разработала и синтезировала два аналога сферимицина, SPM1 и SPM2. Было обнаружено, что эти аналоги эффективны против грамположительных бактерий.

Затем установили структуру SPM1, связанного с MraY, и определили, как еще больше упростить молекулы. Удалось разработать более простой аналог SPM3, активность которого была аналогична SPM1.

В дополнение к эффективности против MRSA и VRE, СЗМ были также эффективны против *Mycobacterium tuberculosis*, штаммы которых обладают множественной лекарственной устойчивостью.

Наиболее значительным вкладом является создание основного скелета сферимицина, который можно использовать для разработки большего количества антибактериальных агентов, нацеленных на MraY и, следовательно, на штаммы с множественной лекарственной устойчивостью. Будущая работа будет включать оптимизацию разрабатываемых в настоящее время молекул SPM и разработку комбинаций антибиотиков, содержащих сферимицин, для воздействия на более широкий круг бактерий.



Developing antibiotics that target multiple-drug-resistant bacteria – ScienceDaily [Электронный ресурс]. URL: <https://www.sciencedaily.com/releases/2022/12/221220113025.htm>