

**ТОКСИГЕННІ ВЛАСТИВОСТІ  
ВАКЦИННИХ ШТАМІВ ЗБУДНИКА СИБІРКИ**

**У. М. Яненко, Н. Г. Сорокіна\*, Н. В. Гудзь**, кандидати ветеринарних наук

**В. М. Яненко, С. М. Терещенко**, наукові співробітники

**О. В. Дорофєєва**, провідний інженер

*Інститут ветеринарної медицини НААН України, м. Київ*

*\* Національний Університет Біоресурсів і Природокористування України*

Проведено порівняння здатності до токсиноутворення трьох штамів збудника сибірки: *V. anthracis* K-79Z, *V. anthracis* СБ та *V. anthracis* UA-07. Для визначення титру екзотоксину застосували реакцію диск-преципітації. Встановлено, що штам *V. anthracis* K-79Z володіє кращими продуктивними властивостями порівняно з *V. anthracis* UA-07 та *V. anthracis* СБ, про що свідчить високий титр його екзотоксину в реакції диск-преципітації.

**Ключові слова:** *штам, сибірка, екзотоксин, реакція диск-преципітації.*

Сибірка (*Anthrax*) є гострим інфекційним захворюванням, яке характеризується важкою інтоксикацією організму, лихоманкою, септицемією, виникненням набряків і карбункулів, ураженням кишковика, іноді – легенів. Хворіють багато видів сільськогосподарських і диких тварин, а також людина. Захворювання на антракс тварин і людей продовжує залишатися серйозною проблемою і сьогодні в багатьох країнах світу, незалежно від рівня їх розвитку. Сибірка століттями була стихійним лихом, знищуючи величезну кількість сільськогосподарських тварин [1].

За даними Міжнародного епізоотичного бюро (МЕБ) і Всесвітньої організації охорони здоров'я за останні 15 років у світі зареєстровано понад

150 тисяч спалахів сибірки, щорічно гине понад 2 мільйони тварин і хворіє понад 40 тисяч людей [3].

Постійне розширення масштабів специфічної імунізації сприйнятливих до антраксу тварин було вирішальною причиною істотного зниження їх захворюваності. У Радянському союзі щорічно щеплювали проти сибірки понад 270 млн. сільськогосподарських тварин, що значно знижувало захворюваність на антракс, але не усунуло загрози нових спалахів цієї інфекції, потенційна можливість якої існує постійно, при цьому в зовсім нових ракурсах прояву. Так, наприклад, багато країн включили сибірку до переліку інфекцій, що використовуються як бактеріологічна зброя [2].

Якість вакцини, тривалість та напруга поствакцинального імунітету у щеплених тварин залежать від здатності вакцинного штаму продукувати в організмі тварини екзотоксин, на який формується антитоксичний імунітет. Ізоляти та вакцинні штами *B. anthracis* відрізняються за токсичністю та кількістю виробленого токсину [5].

Тому **метою** роботи була порівняльна оцінка токсигенних властивостей штамів *B. anthracis* К-79Z, *B. anthracis* UA -07 та *B. anthracis* СБ.

**Матеріали та методи досліджень.** Матеріалом для дослідження слугували матриксні культури штамів *B. anthracis* К-79Z, *B. anthracis* СБ, *B. anthracis* UA -07, виділені з рідких живих сибіркових вакцин за методикою попереднього звільнення від гліцерину та поетапних розведень у 0,9 %-му розчині натрію хлориду. Референтна культура *B. cereus var. anthracoides* 96 ГІСК 01027 слугувала контролем.

Культури вакцинних штамів збудників сибірки перед початком дослідження перевіряли на чистоту, типовість росту на рідких та твердих поживних середовищах.

Усі штами культивували в МПБ протягом 78 год за температури 37<sup>0</sup> С. Після цього різний об'єм (посадкове число) стерильною піпеткою вносили до флаконів з МПА. Штам *B. anthracis* К-79Z засівали у перший флакон з МПА у кількості – 1,5 млн. мкт/см<sup>3</sup>, у другий – 2,0 млн. мкт/см<sup>3</sup>, у третій –

2,5 млн.мкт/см<sup>3</sup>. Штам *B.anthraxis* СБ – у перший флакон – 2,0 млн. мкт/см<sup>3</sup>, у другий – 3,2 млн. мкт/см<sup>3</sup>, у третій – 3,5 млн. мкт/см<sup>3</sup>.

Контролем слугував штам *B. cereus var. anthracoides* 96 ГІСК 01027, який засівали у флакони з МПА у кількості 2,1 млн. мкт/см<sup>3</sup>.

Після інкубації штамів в однакових умовах у термостаті за температури 37° С впродовж 24 год, культури змивали 0,9 %-ним розчином натрію хлориду і фільтрували для отримання екзотоксину та визначали його титр.

Токсигенні властивості вивчали за допомогою реакції диск-преципітації (РДП) у модифікації А. І. Завірюхи, О. П. Степанюк [4].

Статистичну обробку результатів досліджень проводили з використанням комп'ютерних програм Microsoft office Excel.

**Результати досліджень.** Титр екзотоксину штаму *B.anthraxis* К-79Z у кількості 1,5 млн. мкт/см<sup>3</sup> становив 1:32. При визначенні токсинуотворення дослідної культури з другого й третього флакона отримали однаковий результат: 2,0 млн. мкт/см<sup>3</sup> і 2,5 млн. мкт/см<sup>3</sup> титр – 1:128 (рис. 1). Середнє значення посадкового числа становило  $2,00 \pm 0,29$  млн. мкт/см<sup>3</sup>, середнє значення титру екзотоксину у РДП –  $96,0 \pm 17,8$  ( $p \leq 0,05$ ) (таблиця).

При дослідженні штаму *B.anthraxis* СБ з'ясували, що титр його екзотоксину у 2,0 млн. мкт/см<sup>3</sup> був 1:4. Із збільшенням кількості об'єму дослідного штаму показники титрів зростали але їх величина була набагато нижчою порівняно з штамом *B.anthraxis* К-79Z. Отже, титр штаму *B.anthraxis* СБ у кількості 3,2 млн. мкт/см<sup>3</sup> становив 1: 8, а 3,5 млн. мкт/см<sup>3</sup> – 1:16. У *B. anthracis* СБ не збільшувалась кількість екзотоксину: середнє значення посадкового числа становило  $2,9 \pm 0,25$  млн. мкт/см<sup>3</sup>, а середнє значення титру екзотоксину РДП –  $9,3 \pm 1,8$  ( $p \leq 0,05$ ).

Токсиногенність штаму *B. anthracis* UA-07 змінювалась залежно від об'єму внесеної до живильного середовища культури. Так, при 2,0 млн.мкт/см<sup>3</sup> титр екзотоксину становив 1 : 16, а при дослідженні від 3,0 та 3,5 млн. мкт/см<sup>3</sup> його величина титру збільшилась і становила – 1 : 32.

Середні показники посадкового числа –  $2,8 \pm 0,2$ , а рівня екзотоксину –  $26,6 \pm 2,9$  ( $p \leq 0,05$ ).

**Титри екзотоксину вакцинних штамів *B.anthraxis* за різної кількості посадкового числа на живильні середовища,  $M \pm m$ ,  $p \geq 0,05$**

Вакцинний штам	Показник				$M \pm m$
	Посадкове число млн. мкт/см <sup>3</sup>	1,5	2,0	2,5	
<i>B.anthraxis</i> К-79Z	Посадкове число млн. мкт/см <sup>3</sup>	1,5	2,0	2,5	$2,0 \pm 0,13$
	Титр екзотоксину	1 : 32	1 : 128	1 : 128	$96,0 \pm 17,8$
<i>B.anthraxis</i> СБ	Посадкове число млн. мкт/см <sup>3</sup>	2,0	3,2	3,5	$2,9 \pm 0,25$
	Титр екзотоксину	1 : 4	1 : 8	1 : 16	$9,3 \pm 1,8$
<i>B.anthraxis</i> UA-07	Посадкове число млн. мкт/см <sup>3</sup>	2,0	3,0	3,5	$2,8 \pm 0,2$
	Титр екзотоксину	1 : 16	1 : 32	1 : 32	$26,6 \pm 2,9$
<i>B. cereus</i> var. <i>anthracoides</i> 96 ГІСК 01027	Посадкове число млн. мкт/см <sup>3</sup>	2,0	3,0	3,5	$2,8 \pm 0,2$
	Титр екзотоксину	Титр відсутній			

При порівнянні токсикогенності усіх трьох сибіркових штамів відзначено, що найвищий показник був у *B. anthracis* К-79Z –  $96,0 \pm 17,8$  і у *B. anthracis* UA-07, відносно до К-79Z він менше на 69,4, а у *B. anthracis* СБ на – 86,7.

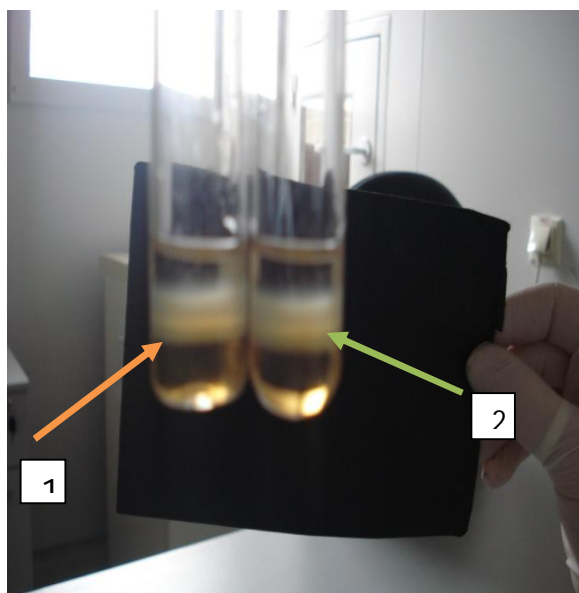


Рис. 1 Реакція РДП

1 – *B. anthracis* К-79Z 1 : 128;

2 – *B. anthracis* UA-07 1 : 32

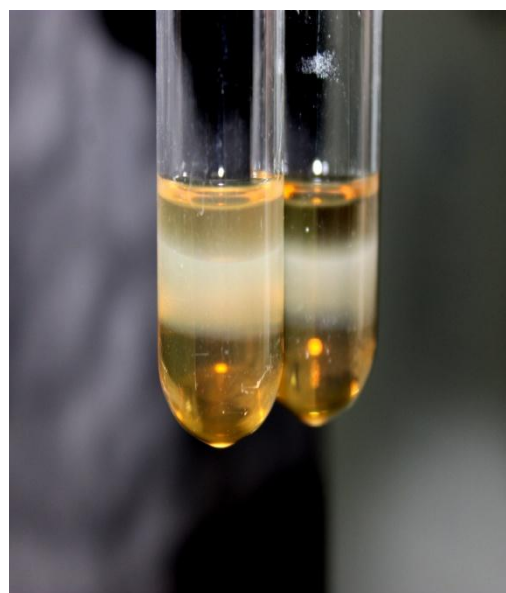


Рис. 2 РДП негативний

результат контролю *B. cereus* var. *anthracoides*

**Висновок.** Штам *B.anthraxis* К-79Z володіє кращими продуктивними властивостями порівнянно з *B.anthraxis* UA – 07 та *B.anthraxis* СБ, про що свідчить високий титр його екзотоксину в РДП.

Рекомендуємо використовувати описаний метод для підбору штамів для створення більш ефективних вакцин проти сибірки.

### Список літератури

1. Гамалея Н. Ф. Работы по изучению сибирской язвы / Гамалея Н. Ф. // Собрание сочин. – М.: Медгиз, 1956. – Том 1. – С. 97–136.
2. Сучасні проблеми сибірки / Л. С. Бондарєв, І. А. Зайцев, В. О. Туйнов [та ін.] // Інфекційні хвороби. – 2001. – № 4. – С. 77 – 79.
3. Державна ветеринарна та фітосанітарна служба України (2012) Епізоотична ситуація в світі: інформація Міжнародного епізоотичного бюро. <http://vet.gov.ua/db/meb>.
4. *Завирюха А.И.* Метод ускоренной диагностики сибирской язвы/А.И.Завирюха, О.П.Степанюк// Достижения и перспективы борьбы с сибирской язвой.– М.: Медгиз, 1978. – С.127-130.
5. *Ушкалов В.О.*Результати комісійних досліджень вакцин проти сибірки тварин із штаму *Bacillus anthracis* Sterne 34 F2 / В.О. Ушкалов, О.В. Мачуський, М.Є. Романько [та ін.] // Вісник Білоцерків. держ. аграр. ун-ту: [Зб. наук.праць] – Біла Церква, 2011. – Вип. 7 (83). – С. 102 – 104.

### ТОКСИНОГЕННЫЕ СВОЙСТВА ВАКЦИННЫХ ШТАММОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ *У. Н. Яненко, Н. В. Гудзь, Н. Г. Сорокина, В. М. Яненко, С. М. Терещенко, Е. В. Дорофеева*

Проведено сравнение способности к токсинообразованию трех штаммов возбудителя сибирской язвы: *B. anthracis* К-79Z, *B. anthracis* ВБ и *B. anthracis* UA-07. Для определения титра экзотоксина применили реакцию диск-преципитации. Штамм *B.anthraxis* К-79Z обладает лучшими продуктивными свойствами по сравнению с *B. anthracis* UA-07 и *B.anthraxis* СБ, о чем

свидетельствует высокий титр его экзотоксина в реакции диск-преципитации.

*Ключевые слова:* штамм, сибирская язва, экзотоксин, реакция диск-преципитации.

## **TOXIGENIC CHARACTERISTICS OF *BACILLUS ANTHRACIS* VACCINE STRAINS**

**U. M. Yanenko, N. G. Sorokina\*, N. V. Gudz, V. M. Yanenko, S. M. Tereschenko, O. V. Dorofeieva**

The ability of three strains of *B. anthracis* K-79, SB and UA-07 to toxin production was compared in this study. To determine toxin production we used disk-precipitation reaction. It is established that *B. anthracis* K-79 strain has better productive characteristics compared to *B. anthracis* UA-07 and *B. anthracis* SB, what has been shown by the high titer of exotoxin in the disk-precipitation reaction.

*Keywords:* strain, anthrax, exotoxin, disk-precipitation reaction.