

Микробиология сибирской язвы



Краткая история открытия возбудителя

Возбудитель сибирской язвы *Bacillus anthracis*

1850 г. - немецкий врач
Алоис Поллендер впервые
наблюдал его при
микроскопии крови павших
коров

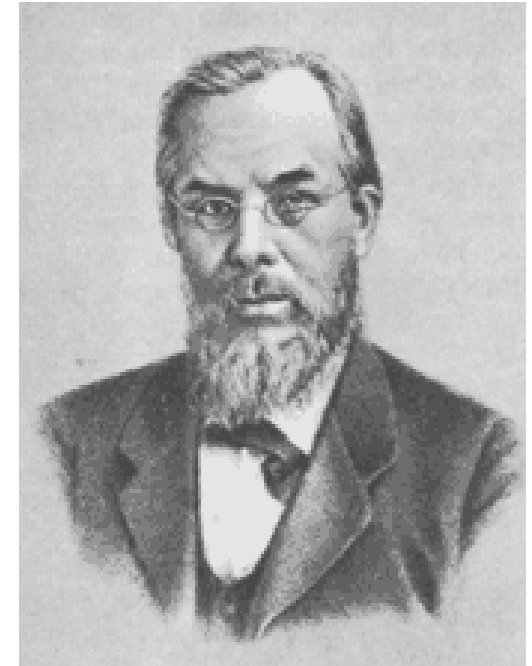


Краткая история открытия возбудителя

1855 г. - Фридрих Август Брауэль, немецкий ученый, работавший в России, впервые обнаружил возбудитель сибирской язвы в крови человека и обратил внимание на причинную роль микробов в возникновении болезни. Экспериментально доказал восприимчивость к этой болезни разных видов животных.

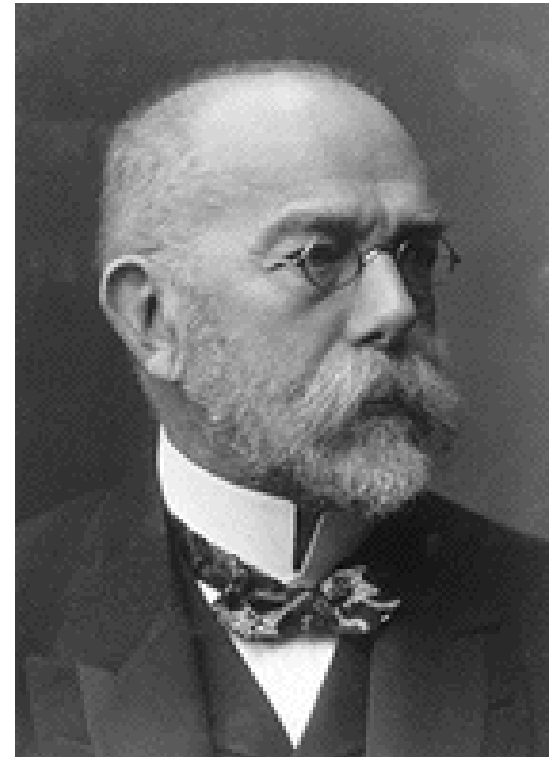
Краткая история открытия возбудителя

1863 - 68 гг. - Казимир-Джозеф Давэн (Kasimir-Joseph Davaine), французский ученый, обнаружил те же микробы в крови и органах павших овец, и экспериментально заразил такой кровью здоровых овец и лошадей. Найденные им бактерии получили название **телец Давэна**



Краткая история открытия возбудителя

1876 г. - работа Роберта Коха (Heinrich Hermann Robert Koch) «Этиология сибирской язвы». Он описал вегетативные клетки и споры, проследил развитие микроба, показал, что мышью можно заразить материалом, взятым от больного домашнего животного. Производя инокуляцию от мыши к мышам, он передал эту болезнь последовательно 20 мышам и при каждом переносе наблюдал характерные симптомы.



Краткая история открытия возбудителя



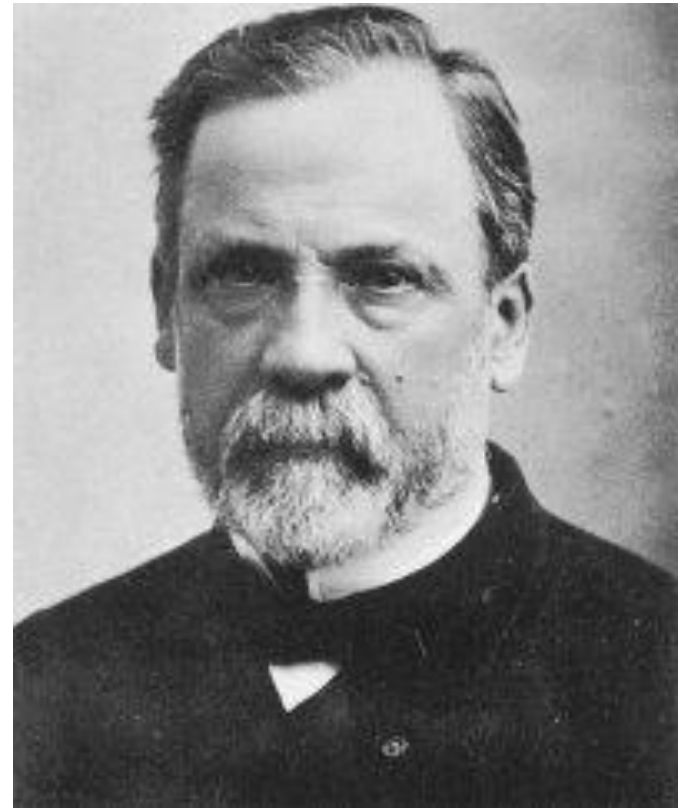
1876 г. – оригинальные микрофотографии *Bacillus anthracis*, сделанные Р. Кохом

Краткая история открытия возбудителя

1877 г. - Луи Пастер (Louis Pasteur) и Жюль Франсуа Жубер (Jules Francois Joubert) подтвердили выводы Коха и впервые задолго до Флеминга, отметили, что сибиреязвенный микроб не растет, если культура загрязнена плесенью.

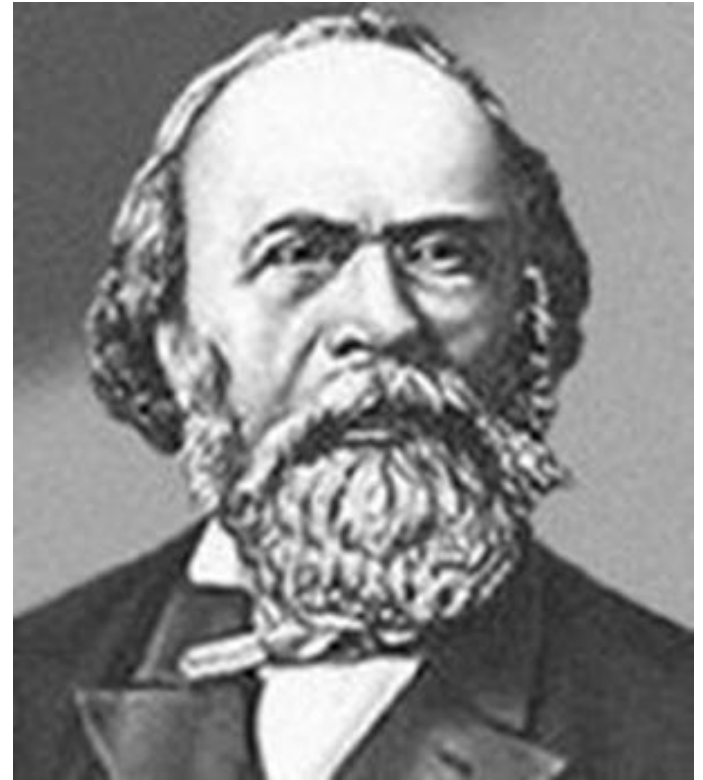
Краткая история открытия возбудителя

1881 г. - Луи Пастер
публично
продемонстрировал
эффективность
разработанной им
вакцины против
сибирской язвы



Краткая история открытия возбудителя

В период с 1882 по 1885 гг. Львом Семеновичем Ценковским в России была разработана и испытана на большой группе животных вакцина, которая использовалась у нас в стране и за рубежом вплоть до середины XX века.



Краткая история открытия возбудителя

Капсула у
сибиреязвенного
микроба была
обнаружена Серафини в
1888 году



Краткая история открытия возбудителя

Эффективная вакцина для животных, применяющаяся за рубежом до настоящего времени, была создана в 1936-1939 гг. Максом Стерне, работавшим в Южной Африке.



Краткая история открытия возбудителя

В Советском Союзе аналогичная живая споровая вакцина СТИ была разработана в 1940 г. усилиями Н.Н. Гинсбурга и А.Л. Тамарина при участии Н.Ф.Копылова, Р.Ф.Салтыкова, Н.А.Спицына и других в Санитарно-техническом институте.



Н.Н. Гинсбург

Краткая история открытия возбудителя

**Сибиреязвенный
токсин был открыт Х.
Смитом (Harry Smith)
в 1954 году [Smith et
al., 1955].**



Краткая история открытия возбудителя

В 1983-1986 годах И.А. Бакуловым и соавторами во Всесоюзном научно-исследовательском институте ветеринарной вирусологии и микробиологии была создана новая живая вакцина против сибирской язвы для животных, которая используется в нашей стране в настоящее время (ВНИИВВиМ-55).



Краткая история открытия возбудителя

Первая работа, в которой была описана плаزمида *B.anthraxis*, ответственная за синтез токсинов и обозначаемая сейчас как рХО1, появилась в 1983 году [Mikesell et al., 1983]. Двумя годами позже независимо друг от друга вторая плазмида сибиреязвенного микроба, рХО2, кодирующая синтез капсулы, была открыта исследователями из США и Японии [Green et al, 1985; Ushida et al., 1985].

Краткая история открытия возбудителя

Генетическая
вариабельность штаммов
сибиреязвенного
микроба впервые
достоверно была
показана Keim et al.
[2000].



Краткая история открытия возбудителя

Первые данные о полной нуклеотидной последовательности генома *B.anthraxis* были опубликованы в 2002 году [Read et al., 2000].



Краткая история открытия возбудителя

В Советском Союзе и Российской Федерации исследования в области микробиологии сибирской язвы проводились и продолжаются в наше время в Ставропольском научно-исследовательском противочумном институте, Научно-исследовательском противочумном институте Сибири и Дальнего Востока (г. Иркутск), Российском научно-исследовательском противочумном институте «Микроб» (г. Саратов), Волгоградском научно-исследовательском противочумном институте, Государственном научном центре прикладной микробиологии и технологии (п. Оболенск), Научно-исследовательском институте микробиологии Министерства обороны Российской Федерации (г. Киров). Разработано несколько вакцин против сибирской язвы [комбинированная вакцина (НИИМ МО РФ), резервные вакцины, включая антибиотикорезистентные (Ставропольский НИПЧИ, Буравцева Н.П.; ГНЦПМБ, п. Оболенск), прототипы рекомбинантной вакцины (РосНИПЧИ, г. Саратов)]. Разработаны и производятся в Ставропольском НИПЧИ, РосНИПЧИ «Микроб», ГНЦПМБ, ЦНИИэпидемиологии отечественные медико-биологические препараты для лабораторной диагностики сибирской язвы (питательные среды, диагностические бактериофаги, иммунофлуоресцентные, магноиммуносорбентные, иммунохроматографические тест-системы, ПЦР тест-системы). В Ставропольском НИПЧИ функционирует Референс-центр по мониторингу за возбудителем сибирской язвы.]

Систематическое положение *B. anthracis*.

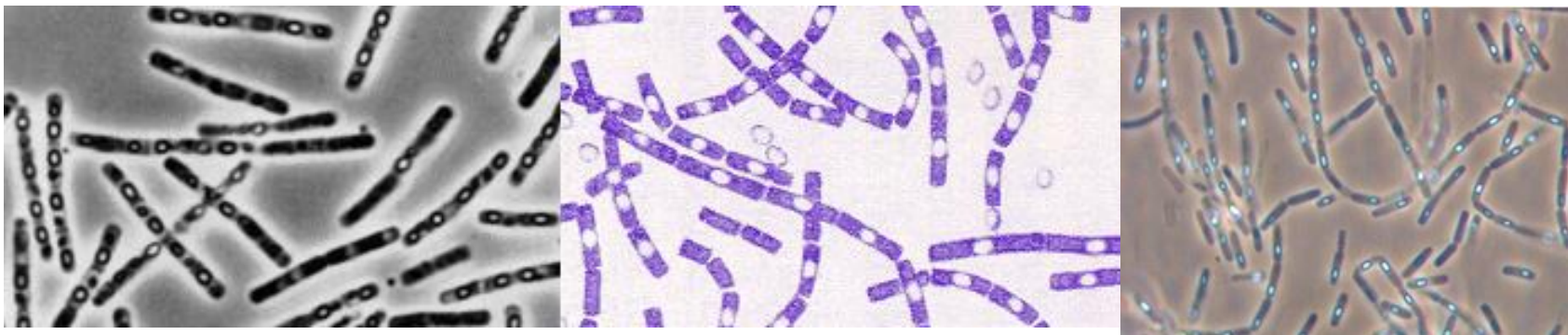
-Тип Firmicutes
-Класс Bacilli
-Порядок Bacillales
-Семейство
спорообразующих
микроорганизмов Bacillaceae
-Род Bacillus
(Таксономические категории,
рекомендованные решением
Международного кодекса
для бактерий)

-Домен Bacteria
-Тип VXIII, Firmicutes phy. nov.
-Класс III, Bacilli
-Порядок I, Bacillales
-Семейство I, Bacillaceae
-Род I. Bacillus
[2-е издание
таксономической схемы
(2001 г.) Руководства Берджи
по систематической
бактериологии]

Характеристика рода *Bacillus*

Род *Bacillus*, установленный Cohn в 1872, подвергался существенным таксономическим изменениям. Состоя вначале всего из двух наиболее примечательных видов, *Bacillus anthracis* и *Bacillus subtilis*, этот род к 1939 году расширился до невероятных 146 видов. Виды этого рода объединяет то, что все они являются **аэробными образующими эндоспоры бактериями.**

Характеристика рода *Bacillus*



B. thuringiensis

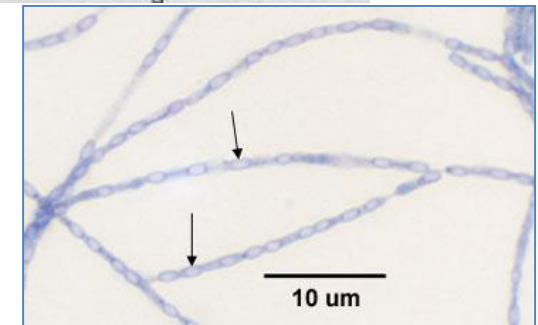
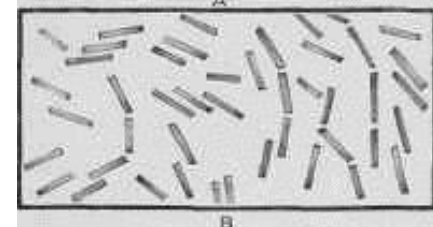
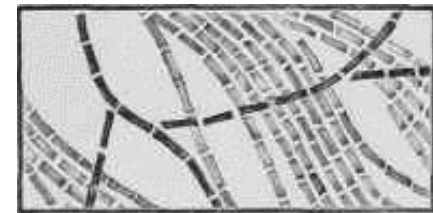
B. anthracis

B. cereus

В настоящее время род *Bacillus* включает 88 видов и два подвида, определенных по ряду признаков, и прежде всего, на основании анализа последовательностей 16S рРНК/ДНК. Внутри рода выделяют группу «***Bacillus cereus***», в которую входят *Bacillus anthracis*, *B. cereus*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. thuringiensis* и *B. weihenstephanensis*. У них много общих морфологических свойств, высокая гомология и сходная организация геномов, отличающаяся относительно низким содержанием ГЦ-пар и наличием больших плазмид, способных в эксперименте к меж- и внутривидовой передаче. Эти шесть видов бацилл нелегко различить на основе фенотипических и генетических особенностей.

Морфология клеток *B. anthracis* в мазках с плотных и жидких питательных сред

Сибиреязвенный микроб – крупная неподвижная грамположительная палочка, хорошо красится всеми анилиновыми красителями. Встречается в трех формах – вегетативной бескапсульной, вегетативной капсульной и споровой. Размеры вегетативных клеток 1-1,5 x 6-10 мкм, спор 0,8-1x1,5 мкм. В мазках с питательных сред бескапсульные палочки образуют длинные цепочки, концы микробов в окрашенных препаратах обрублены или несколько вогнуты, цепочка напоминает бамбуковую трость с коленчатыми сочленениями.



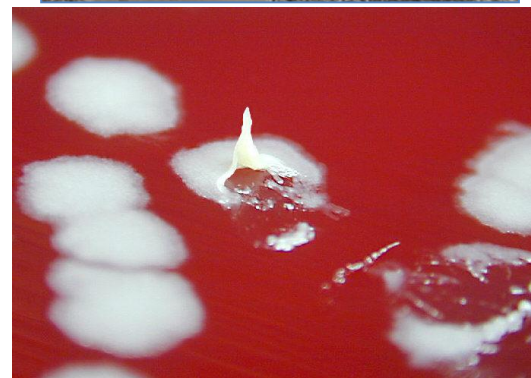
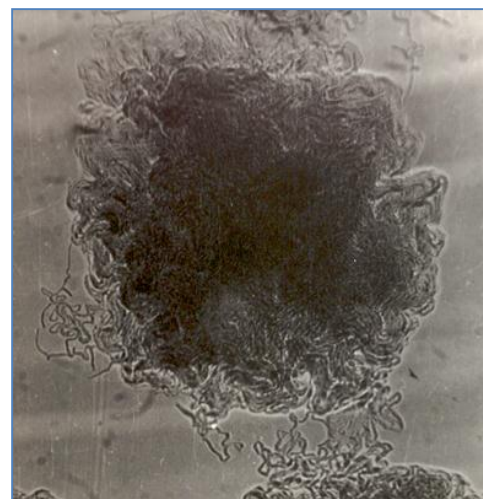
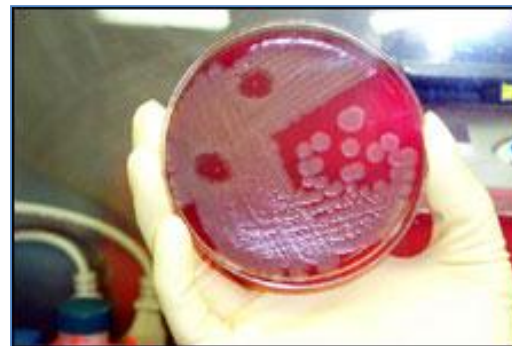
Морфология клеток *B.anthraxis* в мазках из патологического материала от больных

В препаратах из патологического материала палочки расположены поодиночке, попарно или короткими цепочками, окружены капсулой, зачастую общей для группы клеток.



Морфология колоний *B. anthracis* на плотных питательных средах

На обычных плотных питательных средах (агар Хоттингера, МПА) сибиреязвенный микроб образует после суточной инкубации при 35-37 °С крупные шероховатые матовые колонии в R-форме, с «шагреновой» поверхностью, с неровными краями и отходящими от них волнистыми отростками, напоминающими при просмотре в микроскопе (малое увеличение) локоны волос или «львиную гриву» (R-форма).



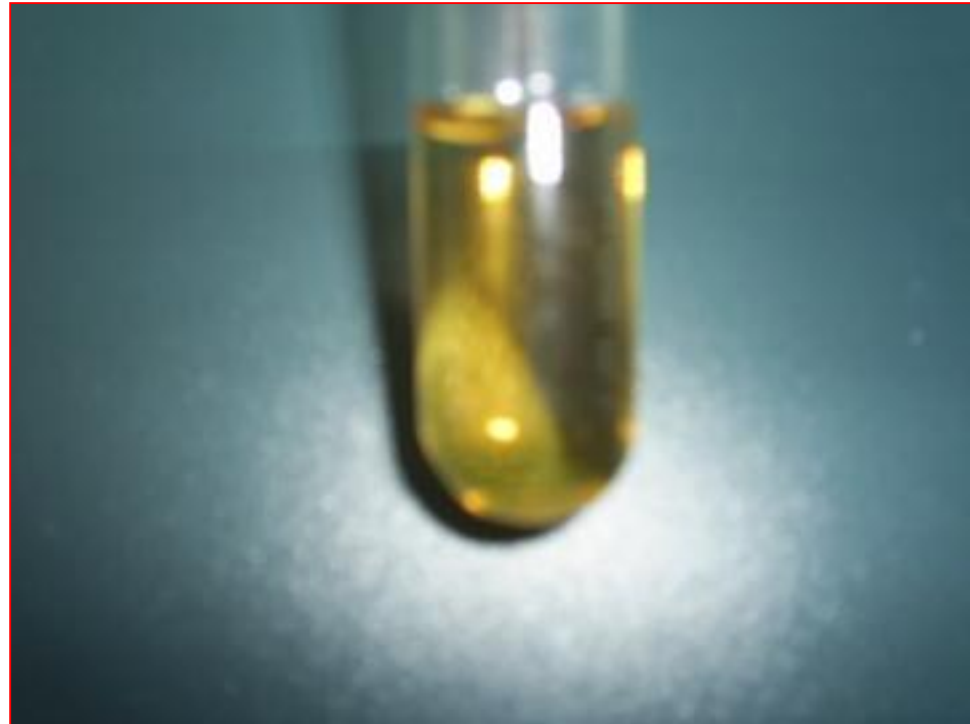
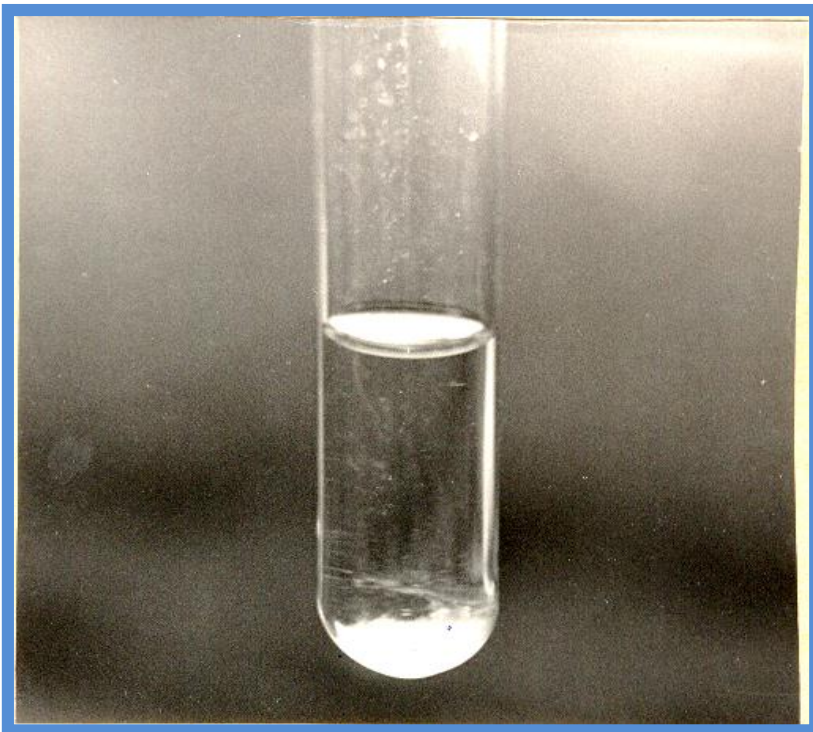
Морфология колоний на плотных питательных средах



На бикарбонатно-сывороточном агаре при культивировании в атмосфере с 5-50% CO₂ микроб формирует гладкие, слизистые, блестящие, полупрозрачные колонии (SM-форма)



Характер роста в жидких питательных средах



На мясо-пептонном бульоне или бульоне Хоттингера сибиреязвенный микроб растет в виде «комочка ваты», трудно разбивающегося при встряхивании, при этом бульон остается прозрачным.

Капсулообразование

Типичные вирулентные штаммы микроба капсулу образуют только в живом организме или при культивировании в атмосфере с повышенным содержанием CO_2 на специальных питательных средах, содержащих сыворотку и бикарбонат натрия [1% бикарбонатно-сывороточный агар, жидкая среда ГКИ (60% раствора Хэнкса и 40% лошадиной или бычьей сыворотки)]. На 1% бикарбонатно-сывороточном агаре формируются колонии в SM-форме.

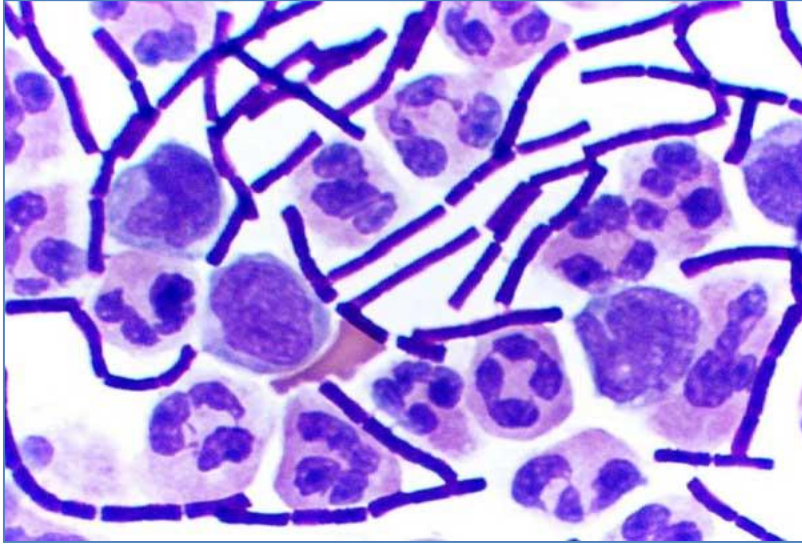


Капсулообразование

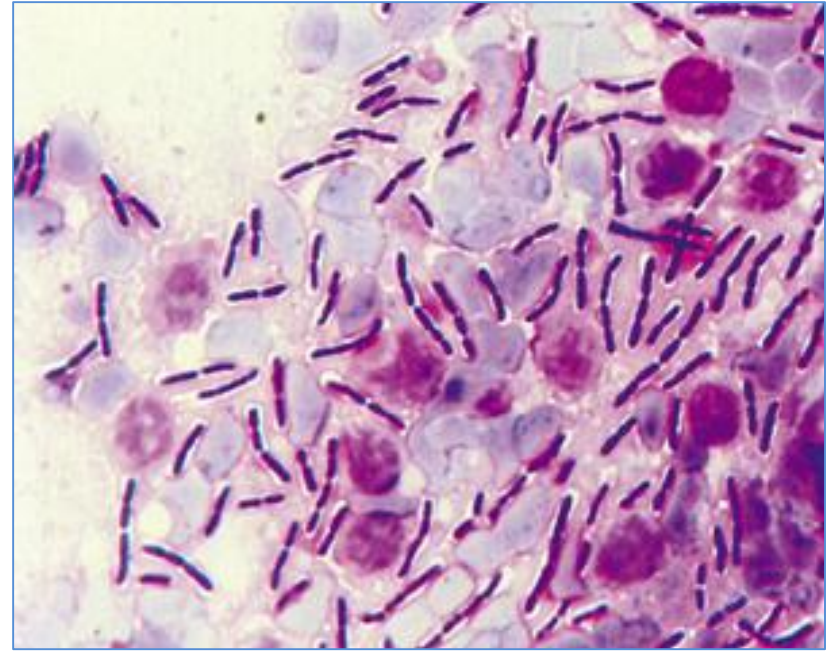
Для окраски капсулы необходимы специальные методы:

1. По методу Ребигера карболовым генцианвиолетом (клетки окрашены в синий цвет и окружены бесцветными или слабо розовыми капсулами)
2. По методу Гинса карболовым фуксином Циля на фоне черной туши (клетки окрашены в розово-малиновый цвет, капсулы бесцветны)
3. По методу Бури (негативное контрастирование прижизненного препарата, на темном фоне выявляются прозрачные неокрашенные зоны капсул вокруг микробных клеток)
4. Люминесцирующими капсульно-соматическими сыворотками при люминесцентной микроскопии (вокруг темной клетки светящаяся ярко-зеленая капсула)

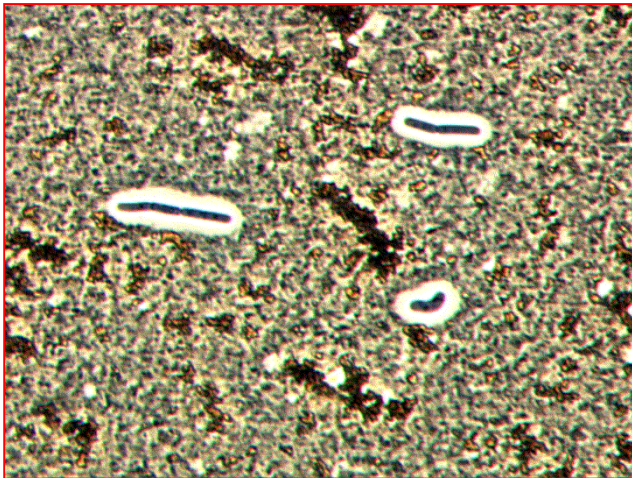
Капсулообразование



1



2



3



4

Спорообразование

Сибиреязвенный микроб при неблагоприятных условиях существования способен формировать споры. В каждой вегетативной клетке образуется только одна спора. Форма спор овальная, расположение центральное, диаметр споры не превышает поперечника микробной клетки. Спорообразование происходит вне живого организма, в условиях внешней среды или на питательных средах при свободном доступе кислорода, дефиците питательных веществ, определенной влажности, нейтральной или слабощелочной среде, при температуре 26-37 °С. При температуре выше 43 °С и ниже 12 °С спорообразование прекращается. Биологическая роль спор прежде всего заключается в том, что они являются формой защиты спорообразующих бактерий от вредного воздействия окружающей среды и тем самым выполняют функцию сохранения вида.

Спорообразование

Споры способны долго сохранять генетический материал исходных клеток и обеспечивать передачу основных свойств потомству в последующих генерациях.

Образование споры – многостадийный процесс, в котором выделяют 7 стадий:

Стадия 0 – вегетативная клетка

Стадия I – образование палочковидной структуры: после удвоения нуклеоидов они объединяются в палочковидную структуру.

Стадия II – образование поперечной перегородки: в результате несимметричного деления образуется поперечная перегородка, отделяющая один из нуклеоидов, конденсирующийся у полюса клетки, и цитоплазму меньшей по размеру клетки, которой предстоит превратиться в спору, от остального клеточного содержимого.

Спорообразование

Стадия III – поглощение проспоры : за образованием перегородки не следует развития поперечной стенки, как при обычном делении. Вместо этого мембрана большей клетки быстро обволакивает малую, которая оказывается полностью окруженной цитоплазмой большей клетки - формируется **проспора**.

Стадия IV – синтез кортекса: в результате «поглощения» большей клеткой проспора оказывается покрытой двумя слоями обычных мембран: собственной мембраной и мембраной материнской клетки. Сразу после «поглощения» проспоры происходит синтез и формирование новых структур, окружающих ее. Первым между наружной и внутренней мембранами образуется новый слой, **кортекс**. Он состоит из особого пептидогликана, отличающегося от пептидогликана вегетативных клеток.

Спорообразование

Стадия V – синтез оболочки: поверх наружной мембраны образуется более электронноплотный слой - **оболочка споры**. У сибиреязвенного микроба вокруг оболочки образуется еще один, менее плотный и более тонкий слой, **экзоспориум**.

Стадия VI – Созревание: по мере образования этих слоев проспора превращается в спору. Одновременно с образованием оболочки спор происходит поглощение Ca^{++} , затем следует синтез дипиколиновой кислоты. Образующееся хелатное соединение **дипиколинат кальция** составляет от 10 до 15 % веса сухой споры и локализовано внутри ее протопласта. В процессе этого спора приобретает термостабильность и высокий показатель светопреломления. Наружная оболочка споры, составляющая от 30 до 60% ее веса, состоит из белков, на долю которых приходится до 80% всех белков споры.

Спорообразование

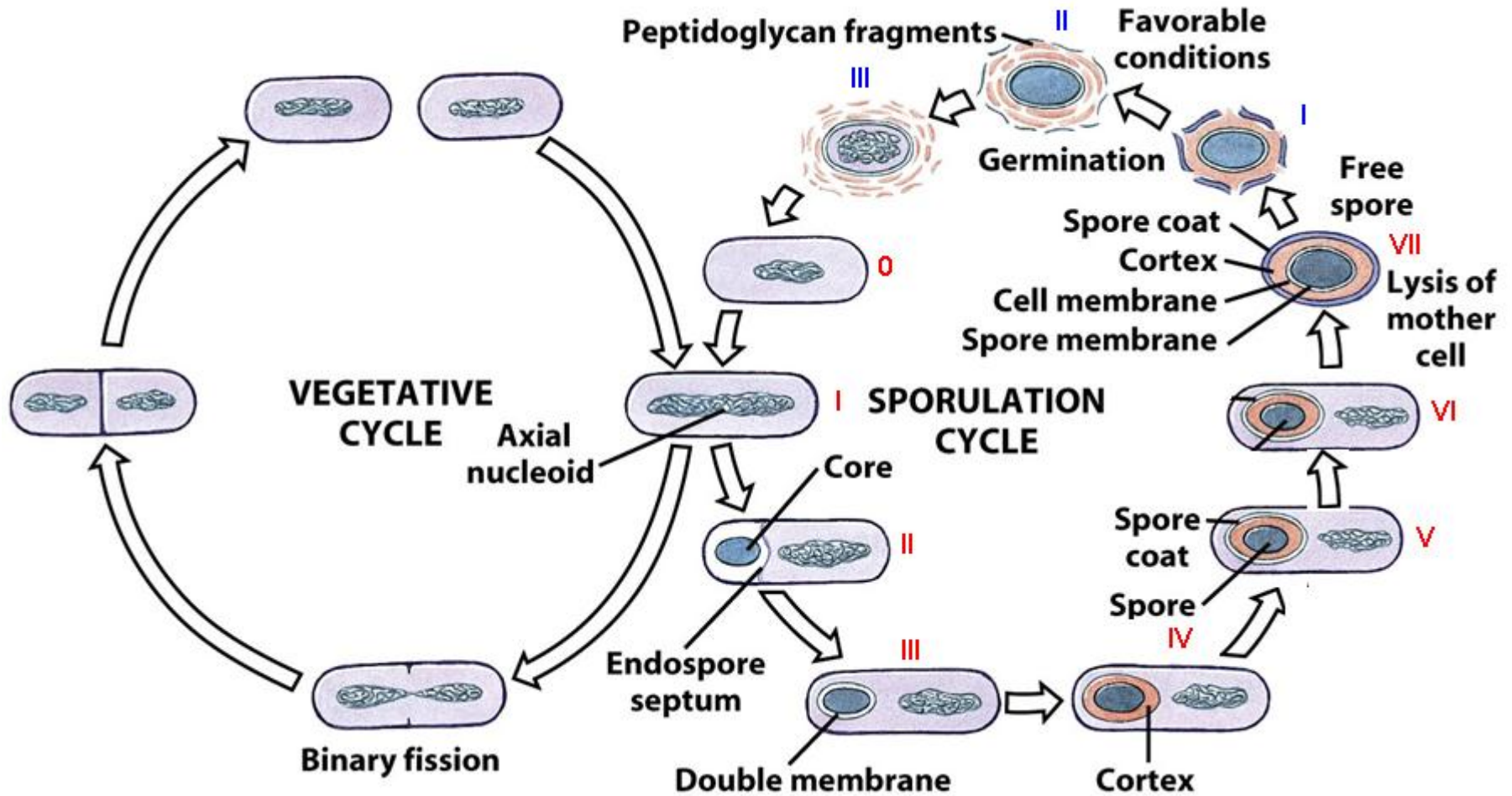
Они отличаются необычно высоким содержанием цистеина и гидрофобных аминокислот и чрезвычайно устойчивы к различным воздействиям, приводящих к растворению большинства белков. В протопласте зрелой споры содержится очень много дипиколината кальция, а сам протопласт окружен новосинтезированными наружными слоями уникальной структуры (кортексом, оболочкой и экзоспориумом). Эти слои по весу составляют весьма значительную часть споры.

Стадия VII – лизис и высвобождение споры: в результате автолиза материнской клетки эндоспора высвобождается. Она сильно обезвожена, не проявляет заметной метаболической активности и надежно защищена от тепловых и радиационных повреждений, а также от химических и ферментативных воздействий. Спора остается в таком криптобиотическом состоянии до тех пор, пока ряд внешних воздействий не инициирует ее превращение в новую вегетативную клетку.

Прорастание спор

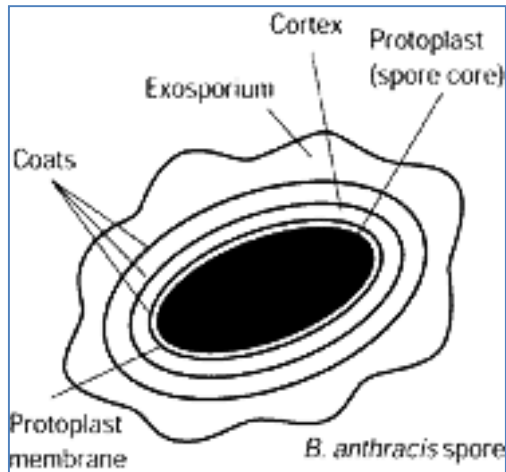
Покоящиеся споры могут пребывать в неактивном состоянии длительное время. Прорастание спор сибиреязвенного микроба происходит с началом нового цикла развития после их попадания в организм хозяина или в среду, содержащую определенные вещества. В прорастании спор *B. anthracis* роль инициаторов играют аминокислоты, рибозиды, глюкоза, дипиколинат кальция и различные неорганические ионы. Процесс протекает очень быстро и проявляется в резком снижении светопреломляемости спор, потере устойчивости к нагреванию и другим внешним воздействиям, восстановлении метаболической активности. Эти процессы сопровождаются выделением во внешнюю среду дипиколината кальция и фрагментов пептидогликана кортекса. Процесс прорастания спор также имеет несколько стадий и при наличии в среде питательных веществ прорастающая спора превращается в вегетативную клетку.

Цикл вегетативного роста, спорообразования и прорастания спор

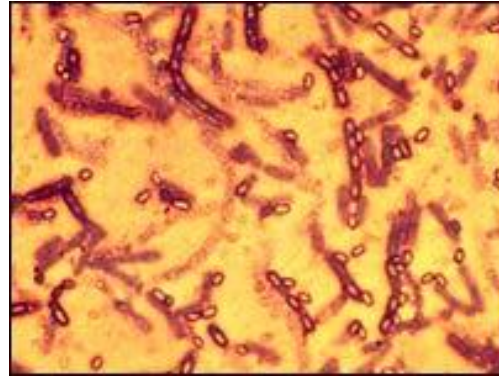


Споры

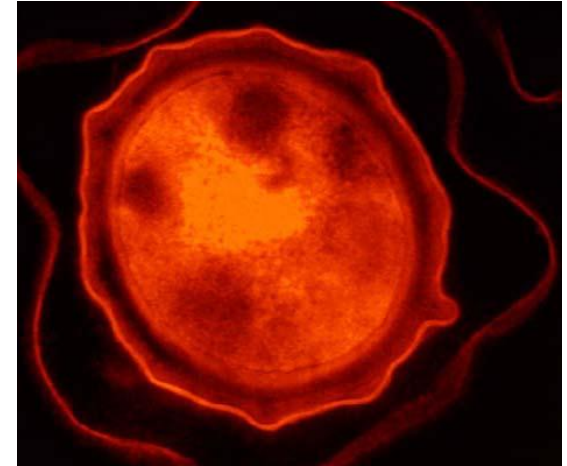
B. anthracis



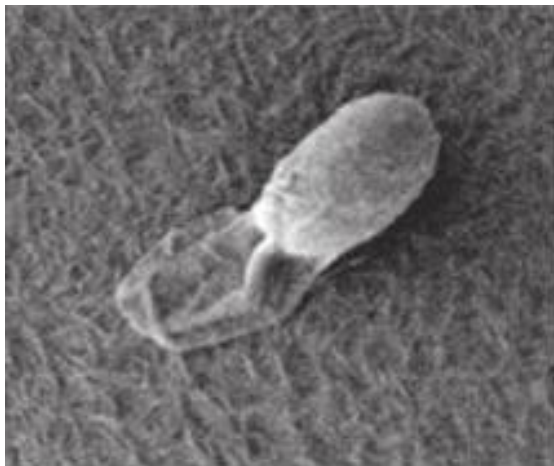
Строение споры *B. anthracis*



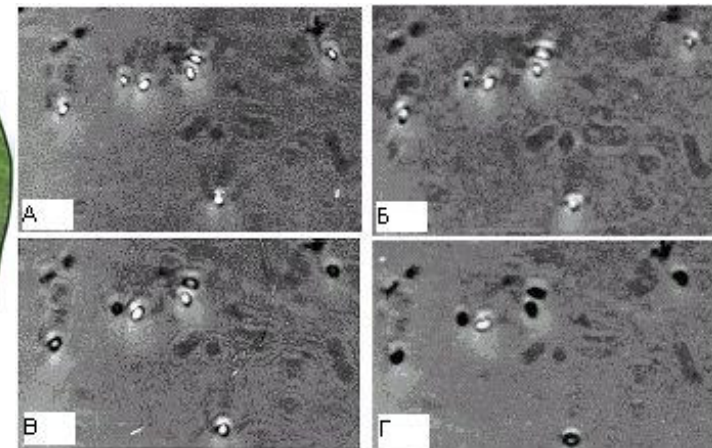
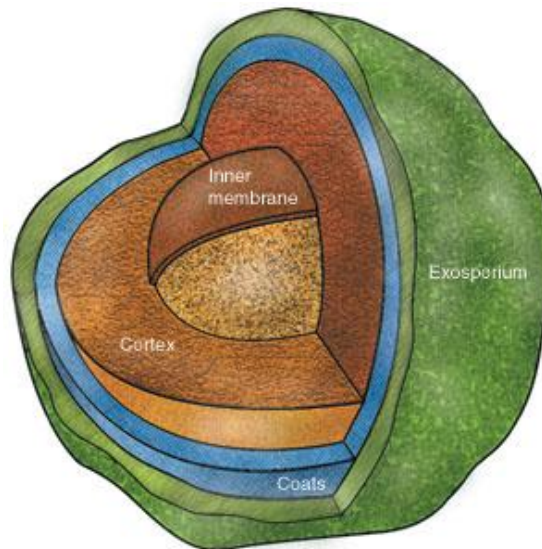
Спорообразование
B. anthracis



Покоящаяся спора *B. anthracis*



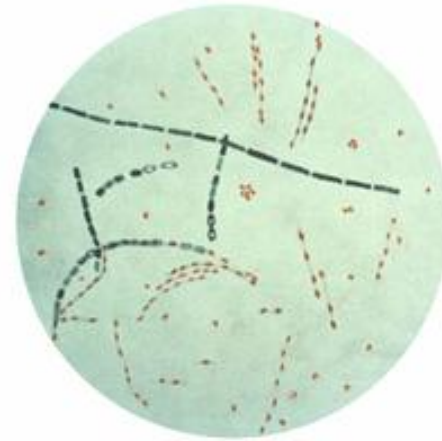
Прорастающая спора *B. anthracis*
Электронная микроскопия



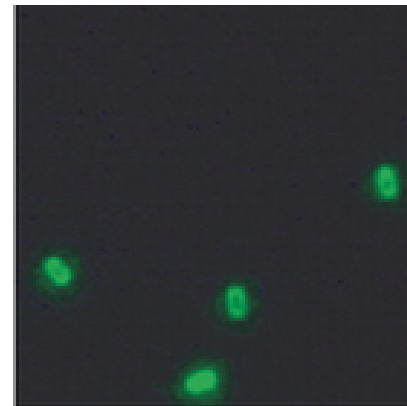
Прорастающие споры *B. anthracis*
Фазово-контрастная микроскопия

Окрашивание спор

1. Окраска карболовым
фуксином по Цилю-
Нильсену - зрелые споры
окрашиваются в розовый
цвет



2. Окраска антиспоровой
люминесцирующей
сывороткой



Метод и особенности фиксации и окраски мазков

Ввиду особой устойчивости спор сибиреязвенного микроба метод фиксации мазков должен обеспечивать их надежное обеззараживание. Фиксацию мазков проводят в фиксирующей жидкости с содержанием 3 % раствора перекиси водорода. Во флакон наливают 180 мл этилового спирта и 20 мл 30 % пергидроля. Фиксирующую жидкость можно не менять в течение месяца, при этом флакон должен закрываться притертой пробкой. Для хранения лучше использовать флакон из темного стекла. Флакон из обычного стекла необходимо держать в темном ящике (ящик лабораторного стола, холодильник). Приготовленные мазки из культур высушивают на воздухе, затем опускают во флакон с фиксирующей жидкостью. Через 30 мин стекла с мазками извлекают и просушивают на воздухе. Держать мазки более 30 мин в фиксирующей жидкости нежелательно. Можно хранить фиксированные мазки в закрытой чашке Петри в холодильнике. Для окраски мазков люминесцирующей сывороткой перед окрашиванием фиксированные мазки целесообразно отмыть от остатков перекиси водорода стекла с мазками в дистиллированной воде в течение 5 мин, что позволяет избежать снижения флуоресценции.

Культурально-биохимические свойства

Возбудитель сибирской язвы - аэроб или факультативный анаэроб. Хорошо размножается на простых питательных средах. Оптимальная температура роста 34 – 37 °С, оптимальное значение pH - 7,2-7,5. Характер роста на плотных и жидких питательных средах, описанный выше, в совокупности с другими признаками учитывается при идентификации.

Минимальные питательные потребности сибиреязвенного микроба удовлетворяются 5-10 аминокислотами и тиамином.

Сибиреязвенный микроб неподвижен, в отличие от многих близкородственных бацилл. При засеве уколом в столбик полужидкого агара рост наблюдается только по ходу укола, а не диффузно.



Культурально-биохимические свойства

Сибиреязвенный микроб биохимически активен - способен разлагать с образованием кислоты без газа глюкозу, мальтозу, сахарозу и некоторые другие сахара, но не разлагает лактозу.

При росте на кровяном агаре с 3-5 % дефибринированной крови барана гемолиз не наблюдается, в то время как большинство сапрофитов дают быстрый гемолиз (через 12-18 ч при 37 °С).

А



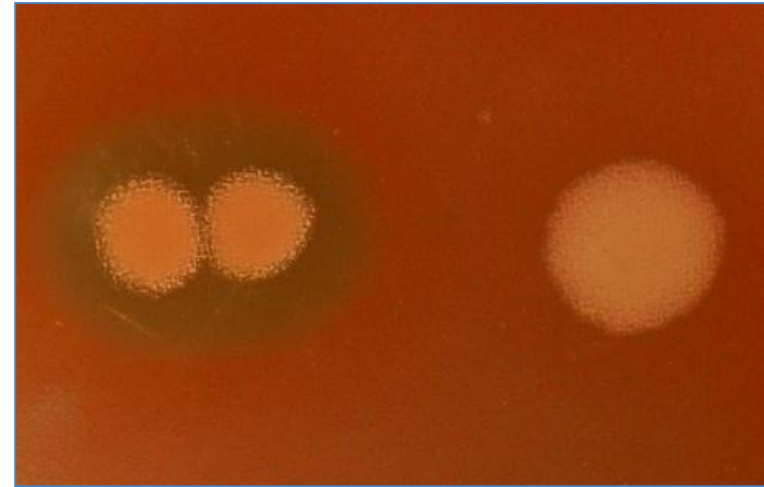
Б



А – *B. anthracis*; Б – *B. cereus*

Культурально-биохимические свойства

Отсутствие гемолитических свойств у возбудителя сибирской язвы считалось наиболее постоянным биохимическим признаком. Однако дальнейшее изучение этого признака показало, что его проявления зависят от условий постановки теста и свойств штаммов. Типичные по всем свойствам высоковирулентные сибиреязвенные штаммы дают гемолиз **отмытых эритроцитов барана**, а штаммы, атипичные по ряду свойств, включая вирулентность, не дают гемолиза в этих условиях (О.И. Цыганкова, 2007)



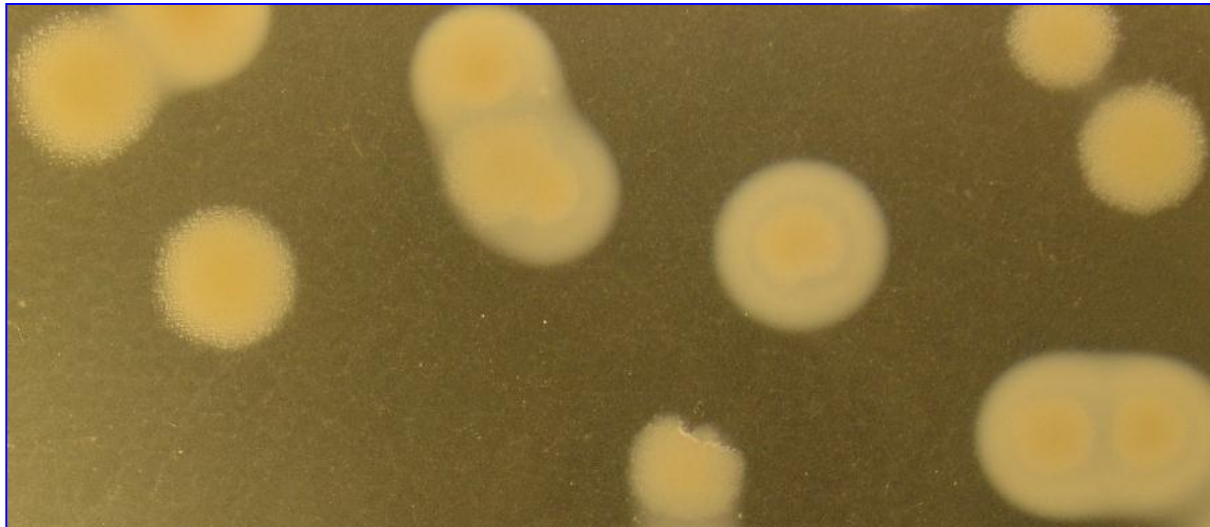
Гемолиз *B.anthraxis*

Культурально-биохимические свойства

Сибиреязвенный микроб обладает **протеолитической активностью** и при посеве уколом в столбик 10-12% мясо-пептонной желатины и выращивании при 22⁰ С рост микроба напоминает елочку, опрокинутую верхушкой вниз; на 3-5 день желатина разжижается в виде воронки. Большинство сапрофитов полностью разжижают желатину в более короткие сроки. Протеолитическая активность сибиреязвенного микроба рассматривается также в связи с вирулентностью, хотя и известны протеолитические варианты вакцинных штаммов. Наиболее активные типичные вирулентные штаммы способны гидролизовать широкий спектр белковых субстратов: фибриноген, желатин, фибрин, казеин, гемоглобин, альбумин, коллаген. Неактивные, как правило, атипичные штаммы со сниженной вирулентностью, гидролизуют только казеин. Ионы Са, Mg являются стимуляторами активности и выработки протеаз. Ингибиторами для отдельных штаммов сибиреязвенного микроба являются ионы Zn, Mn.

Культурально-биохимические свойства

До последнего времени считалось, что сибиреязвенный микроб не образует фермент лецитиназу: при росте на агаре с куриным желтком помутнения агара вокруг колоний не наблюдается, при посеве на жидкую желточную среду желток не свертывается даже при 5-6-суточном инкубировании, чем отличается от сапрофитов, свертывающих желток в течение 6 - 10 ч и дающих зону коагуляции желтка вокруг выросших колоний. Однако с использованием более чувствительных методов оказалось, что некоторые штаммы обладают лецитиназной активностью, и в популяции многих штаммов встречаются также лецитиназоположительные варианты (О.И. Цыганкова, 2007).



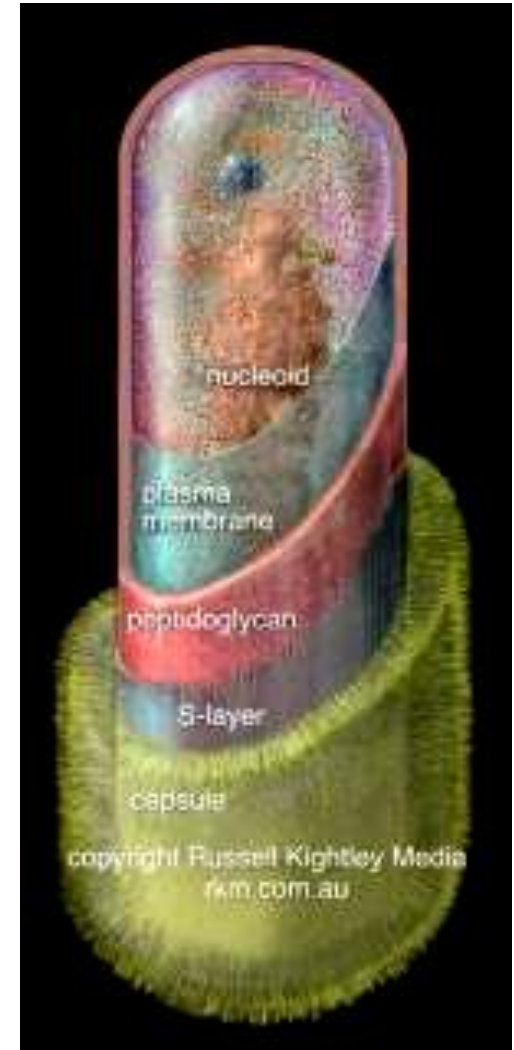
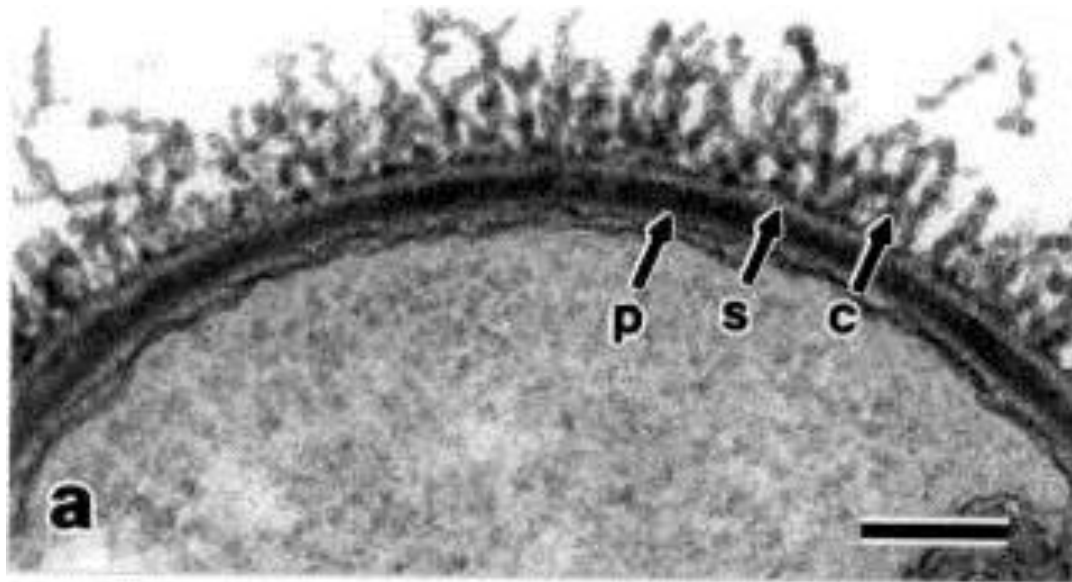
Культурально-биохимические свойства

Сибирезвонный микроб в средах, содержащих неорганический пирофосфат, в отличие от сапрофитных бацилл, не образует щелочную фосфатазу, следовательно, не способен разлагать органические фосфаты, добавляемые в питательную среду (отрицательный тест на щелочную фосфатазу). Для корректной постановки этого теста необходимо, чтобы в среде содержалось не менее 0,4 г/л неорганического пирофосфата.

Антигенная структура

Антигены сибиреязвенного микроба тесно связаны с различными структурными элементами микроба. Известен антиген *B. anthracis*, состоящий из **полипептида d-глутаминовой кислоты** и составляющий основную массу капсульного вещества. Его синтез кодирует плазмида pXO2. Этот антиген отличается слабыми иммуногенными свойствами. Другой антиген – **соматический**, входящий в клеточную стенку микроба, имеющий белково-полисахаридную природу. Этот антиген термостабильный, не разрушается при кипячении, используется при постановке реакции термопреципитации по Асколи, с помощью которой выявляют соматический антиген в различных материалах животного происхождения (трусах, коже, шерсти животных). Идентифицированы также белки S-слоя клеточной стенки **Sap** и **EA1**, обладающие антигенной активностью.

Антигенная структура

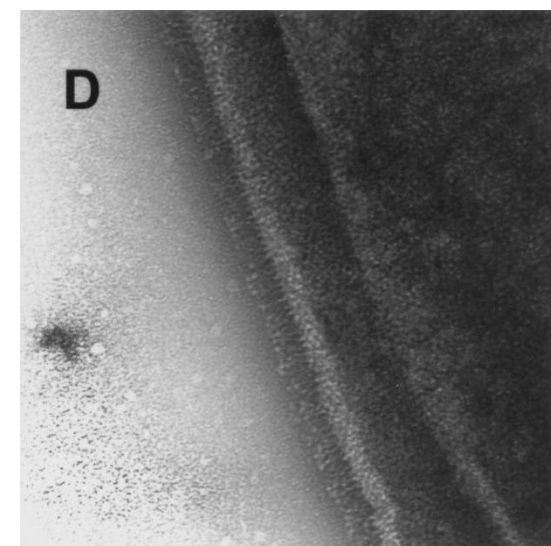
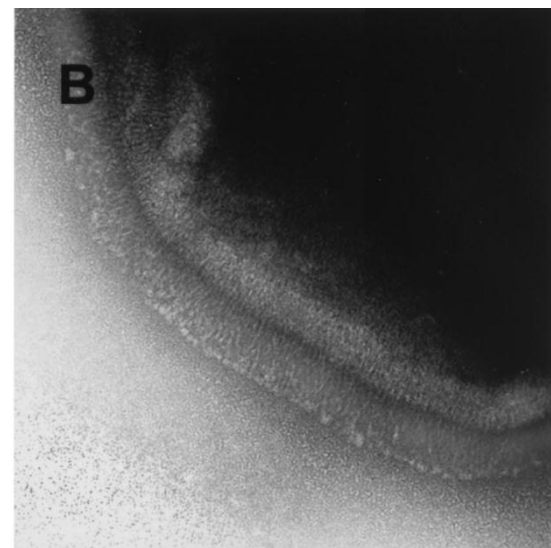


С – капсула; S – S-слой; P – пептидогликановый слой

Антигенная структура

Микроб имеет споровые антигены, связанные с оболочками спор. Экзоспориум состоит из **паракристаллического базального слоя** и **волосоподобного наружного слоя**. В экзоспориуме идентифицировано несколько антигенов – это белки с известными функциями (BclA, ExsFA и ExsFB, ExsY аланинрацемаза, инозин-уридин нуклеозид рацемаза, супероксиддисмутаза) и белки VxpA, VxpC, CotB-1, CotB-2, CotY, функции которых еще предстоит изучить.

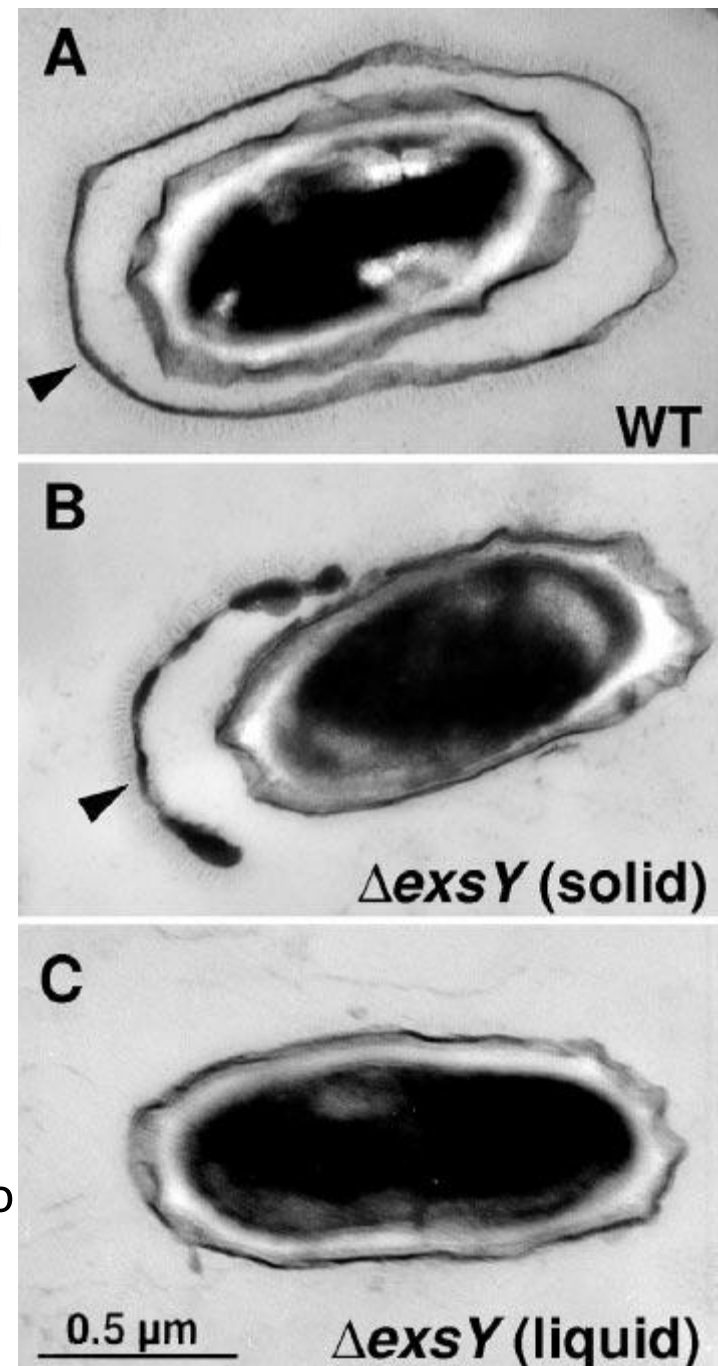
BclA, коллагеноподобный гликопротеид, является структурной основой волосовидного ворса экзоспориума. Белковая часть гликопротеида оказалась также **иммунодоминантным белком споры**, а ее размеры варьировали у разных штаммов, и эта вариабельность определялась разным количеством тандемных повторов в его гене.



Антигенная структура

К различным сайтам в центральной коллагеноподобной области VclA прикреплены множественные копии пентасахарида, который получил название **антрозы**. Предполагалось, что антроза является специфичным компонентом *B. anthracis*, но затем были получены свидетельства того, что этот пентасахарид может синтезироваться также *B. cereus* и *B. thuringiensis*.

Недавно был выявлен второй коллагеноподобный белок экзоспориума, VclB. Белки ExsFA и ExsFB необходимы для правильного расположения VclA на поверхности споры и стабилизации кристаллического слоя экзоспориума. Белок ExsY выполняет критическую функцию в сборке экзоспориума, мутанты, лишённые этого белка, неспособны образовывать экзоспориум.



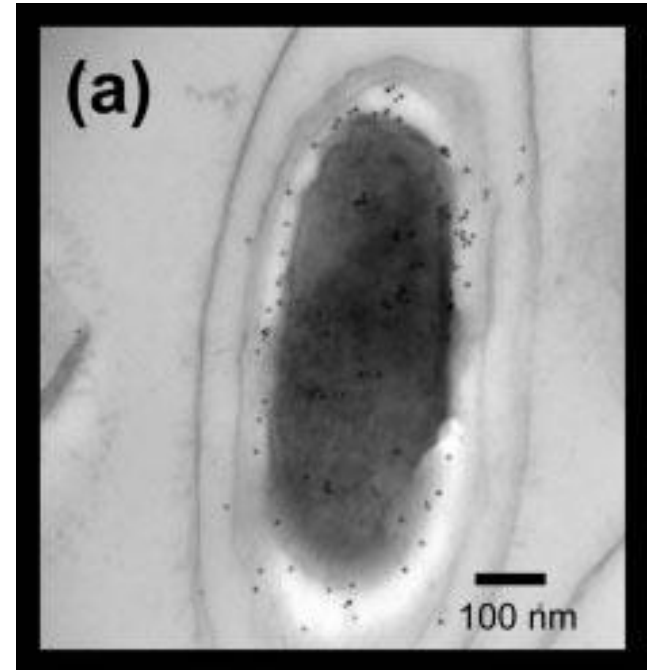
Антигенная структура

Установили, что EA1 антиген, белок S-слоя вегетативных клеток, встречается также в спорах, поэтому оказалось возможным детектировать вегетативные клетки и споры одними и теми же моноклональными антителами к этому белку.

Надо отметить, что некоторые из перечисленных антигенов имеют аналогов среди бацилл группы *Bacillus cereus*, поэтому сыворотки, получаемые к споровым антигенам сибиреязвенного микроба, должны проходить этап адсорбции с клетками близких бацилл для повышения их специфичности.

Антигенная структура

Был идентифицирован связанный со спорами белок, который оказался специфичным для всей группы *Bacillus cereus* и получил название **ассоциированного с опсонизацией спор антигена А (SoaA)**. Иммуноэлектронная микроскопия показала, что этот белок локализуется в кортексе под оболочкой покоящихся спор, однако он участвует во взаимодействии спор с макрофагами сразу же после инфицирования.



Антигенная структура

В настоящее время считается общепризнанным наличие у возбудителя сибирской язвы двух белковых экзотоксинов – **отечного и летального**, которые формируются из трех компонентов, синтезируемых бактериальной клеткой: **протективного антигена, отечного фактора и летального фактора**. Все они кодируются плазмидой рХО1. Эти три белковых фактора не являются самостоятельными токсинами, и только комплексы отечного и летального факторов с протективным антигеном образуют соответствующие токсины с присущей каждому из них специфической биологической активностью. В токсинном бинарном комплексе *B. anthracis* роль субъединицы В выполняет протективный антиген, а А-субъединицами выступают отечный или летальный факторы.

Антигенная структура

Протективный антиген назван так потому, что его введение в отдельности в организм животных и человека вызывает выработку защитных антител, предохраняющих от сибиреязвенной инфекции. Он является важным фактором живых акапсульных сибиреязвенных вакцин и основным компонентом химических и сконструированных генетическими методами рекомбинантных вакцин.

Протективный антиген - белок с молекулярной массой 83 кДа, который связывается с высокоаффинными рецепторами на поверхности клеток-мишеней.

Отечный фактор *B. anthracis* является ферментом аденилатциклазой с молекулярной массой 89 кДа.

Антигенная структура

Секретируемая микробом неактивная форма фермента после транслокации в цитозоль эукариотических клеток модифицируется под действием комплекса кальмодулин-Са, вследствие чего приобретает способность связываться с АТФ, катализируя неконтролируемый перевод его в цАМФ. Результатом является катастрофическое повышение внутриклеточного содержания цАМФ, что резко угнетает функцию клеток, в том числе, фагоцитов, приводит к резкому нарушению водно-солевого обмена и отекам.

Летальный фактор сибиреязвенного микроба идентифицирован как термолизин-подобная цинк-содержащая металлоэндопептидаза (м.м. 90 кДа), специфичная в отношении киназ митоген-активируемой протеинкиназы.

Антигенная структура

Летальный фактор обладает способностью протеолитически расщеплять белки, участвующие в процессе активации макрофагов для иммунного ответа на различные микробные антигены. При воздействии летального токсина в макрофагах и полиморфноядерных нейтрофилах продуцируются активные формы кислорода, что приводит к накоплению в клетках перекисных соединений, нарушению промежуточного метаболизма, деструкции клеточных мембран.

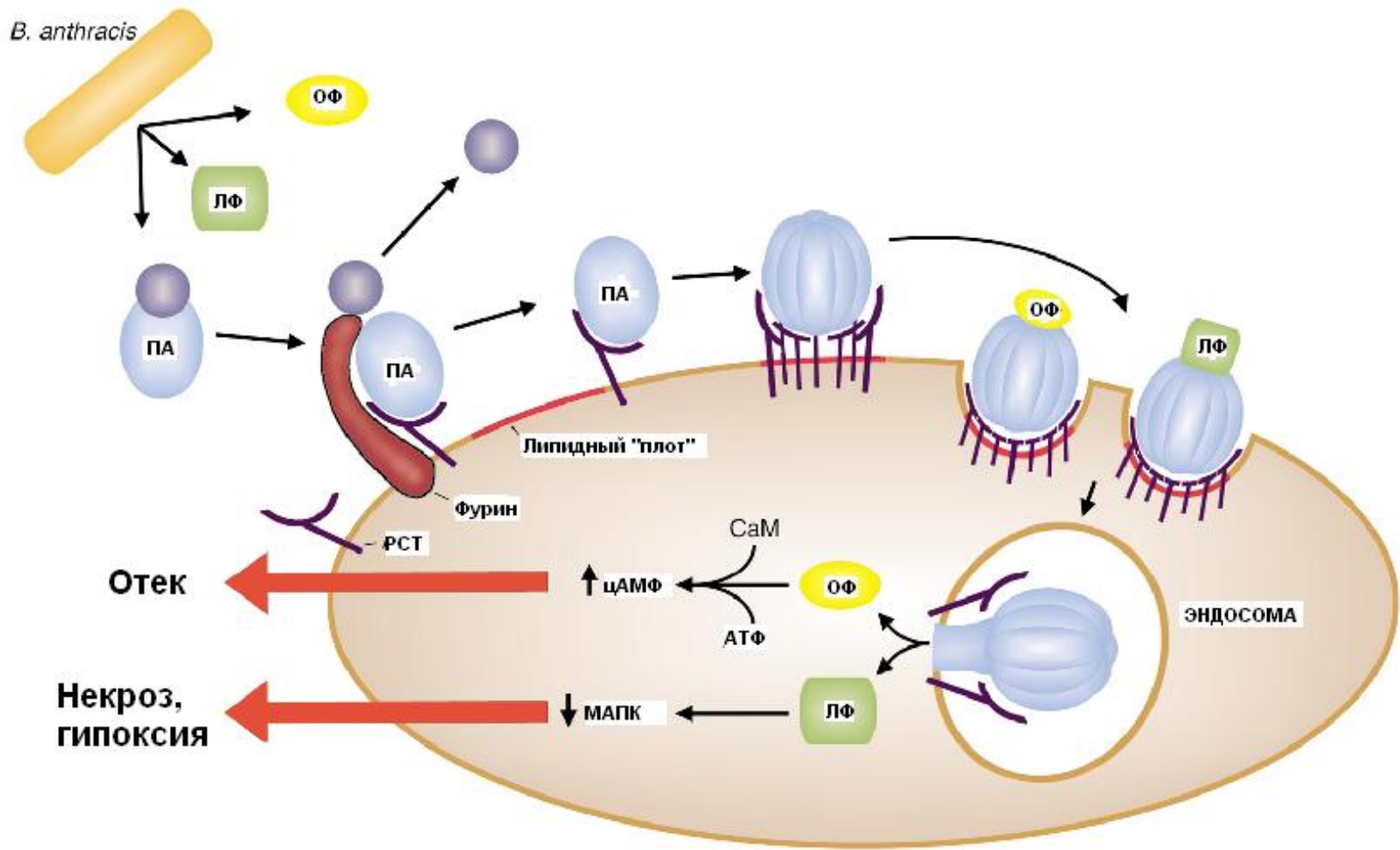
Механизм действия токсинов *B.anthraxis*

Молекулы продуцируемого сибиреязвенным микробом протективного антигена связываются с рецепторами на поверхности эукариотической клетки. Под действием протеазы клетки, которую называют **фурином**, от молекулы антигена размером 83 кДа отсекается фрагмент в 20 кДа. Оставшиеся фрагменты в 63 кДа объединяются на поверхности клетки в гептамер, олигомерную структуру из семи ПА63. К ней присоединяются отечный либо летальный фактор.

Механизм действия токсинов *B.anthraxis*

Затем этот комплекс, обладающий свойством образовывать поры в мембране клетки, путем эндоцитоза проникает в цитоплазму клетки. Там отечный и летальный фактор освобождаются из эндосомы в цитозоль, находят свои мишени - цАМФ и МАПК и оказывают токсическое действие.

В результате развивается отек , гипоксия и некроз клетки.



Действие сибиреязвенных экзотоксинов

Механизм патогенетического действия

Считают, что патогенез сибирской язвы обусловлен преимущественно, если не исключительно, действием экзотоксинов. Независимо от того, каким путем споры возбудителя попадают в организм – через поврежденную кожу или слизистые оболочки, на месте внедрения некоторая часть спор прорастает в инкапсулированные вегетативные клетки, продуцирующие компоненты токсинов. Развивается местный отек и некроз тканей. Большая часть спор из повреждений кожи, слизистых или альвеол захватывается макрофагами.

Механизм патогенетического действия

Макрофаги выполняют несколько функций – фагоцитируют опсонизированные клетки и переваривают их, но так как микроб имеет несколько механизмов, препятствующих опсонизации, фагоцитоз остается незавершенным. В фагоцитах споры прорастают, формируют инкапсулированные вегетативные клетки, противостоящие фагоцитозу и продуцирующие токсины. Фагоциты выполняют роль «троянского коня», разнося возбудитель по лимфатическим сосудам.

Механизм патогенетического действия

Одновременно из фагоцитов освобождаются инкапсулированные клетки возбудителя, попадающие в регионарные лимфоузлы, вызывая регионарный геморрагический лимфаденит. Преодолев этот барьер, клетки и токсины разносятся лимфогенным и гематогенным путями по органам, вызывая септицемию и токсемию. Токсины поражают разные клетки, макрофаги, в которых высвобождаются различные цитокины и свободные оксиданты, что приводит к развитию вторичного шока.

Механизм патогенетического действия

