

УДК 619:616.98:579.852.11

И.Ю. ЕГОРОВА*, Т.А. СЕВСКИХ, Ю.О. СЕЛЯНИНОВ

ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной вирусологии и микробиологии Россельхозакадемии» (ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии), пос. Вольгинский, Владимирская область, 601125

e-mail: iegorova@list.ru

Иммунобиологические свойства нового бескапсульного штамма *Bacillus anthracis* 363/11

В статье представлены результаты изучения иммунобиологических свойств нового естественно аттенуированного бескапсульного штамма *Bacillus anthracis* 363/11 в сравнении со свойствами используемого в настоящий момент в нашей стране и ближнем зарубежье сибирезвненного вакцинного штамма 55-ВНИИВВиМ. Показаны некоторые различия в фенотипах указанных штаммов: так, новый штамм обуславливал лизис эритроцитов барана по α -, а не β -типу; имел значительно более активные протеазы и синтезировал, в отличие от вакцинного штамма, протокатехоевую кислоту. Установлено, что иммунизация животных новым штаммом предохраняет их от гибели после заражения полевыми изолятами *B. anthracis*, против которых штамм 55-ВНИИВВиМ не создает напряженного иммунитета. Полученные данные указывают, что новый штамм может быть использован для разработки и совершенствования средств специфической профилактики сибирской язвы.

Ключевые слова: антигенный состав, вакцины, иммуногенность, протективность, сибирская язва.

С 1986 г. по настоящее время относительное благополучие по сибирской язве в пределах нашей страны обеспечивается иммунизацией животных вакцинами на основе спор штамма *B. anthracis* 55-ВНИИВВиМ. Однако несмотря на поголовно проводимые среди сельскохозяйственных животных специфические мероприятия каждый год в России регистрируется от 4 до 19 вспышек сибирской язвы [1]. Наблюдающиеся случаи заболевания иммунизированных животных, вероятно, связаны с несоответствием отдельных серий вакцины требованиям нормативной документации, нарушениями условий проведения вакцинаций (низкий иммунный статус животных, несоблюдение условий хранения и транспортировки вакцины и др.) [2, 3]. Однако в ряде случаев причиной заболевания могут быть особые свойства полевых изолятов, способных преодолевать индуцирован-

ный живыми и химическими вакцинами иммунитет даже при высоком уровне противосибирезвненных антител в сыворотке крови животного [4–9]. Например, у штаммов *B. anthracis* имеются различия в антигенном составе, в структуре антигенных детерминант, а также в наборе дополнительных факторов патогенности, влияющих на вирулентность микроба и слабо экспрессирующихся либо отсутствующих у широко используемых вакцинных штаммов [10]. Также исследователями из Израиля установлено, что сибирезвненный микроб в условиях *in vivo* способен экспрессировать 84 иммуногенных белка, из которых 8 (не считая компонентов токсина) индуцируют сравнительно высокий гуморальный ответ [11]. Применение для профилактики сибирской язвы вакцинных препаратов, изготовленных на основе одного штамма, на протяжении нескольких десятилетий приводит

Егорова Ирина Юрьевна, Севских Тимофей Александрович, Селянинов Юрий Олегович.

Список сокращений: ИмД₅₀ — иммунизирующая доза для 50 % животных; ЛД₅₀ — летальная доза для 50 % животных; МПБ — мясо-пептонный бульон.

* Автор для переписки.

к адаптации этого микроорганизма к изменившимся условиям обитания и, в частности, к селекции иммунологически несоответствующих вариантов, что способствует выживанию *B. anthracis* как вида.

Таким образом, существующие и используемые в ветеринарной и медицинской практике вакцинные штаммы в ближайшем будущем могут оказаться недостаточно эффективными против полевых изолятов, отличаясь антигенным профилем от большинства циркулирующих в настоящее время изолятов, появившихся в результате естественных эволюционных процессов. Это обуславливает актуальность проведения работ по совершенствованию средств специфической профилактики сибирской язвы как на основе уже известных и широко используемых вакцинных штаммов (СТИ-ПР, СТИ-ПР-3, 55/5), так и с применением новых, естественно или искусственно аттенуированных штаммов (например, 228/8) [12, 13]. Подобные работы проводятся и в ГНУ ВНИИВВиМ Россельхозакадемии, который является разработчиком вакцинного штамма 55-ВНИИВВиМ.

Целью данной работы являлось изучение иммунобиологических свойств нового, естественно аттенуированного бескапсульного штамма 363/11 в сравнении с широко применяющимся вакцинным штаммом 55-ВНИИВВиМ.

УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Штаммы. В работе использовали споровые культуры бескапсульных вакцинных сибиреязвенных штаммов отечественного (СТИ-1, 55-ВНИИВВиМ, Шуя-15) и зарубежного (штаммы Sterne и Ихтиман) происхождения, а также бескапсульного штамма 363/11 (инв. № 363), выделенного в 2011 г. от павшего во Владимирской области подсвинка [14]. Сравнительную оценку протективных свойств и напряженности индуцируемого иммунитета изучали в экспериментах на морских свинках обоих полов массой 200—300 г (сектор подготовки подопытных животных ГНУ ВНИИВВиМ) с использованием капсулообразующих референс-заражающих штаммов (II вакцина Ценковского, штамм 71/12, II вакцина Пастера, штамм 17JB, № 76), капсулообразующего вакцинного штамма (Carbovax) и полевых изолятов (№ 81, 304, 364), выделенных в Казахской АССР, Алтайском крае и Тульской области в 1974 г., 1989 г. и 2011 г., соответственно. Все штаммы и изоляты были получены из музея бактериальных штаммов ГНУ ВНИИВВиМ.

Изучение фенотипических, иммуногенных, протективных свойств и безвредности проводили согласно «Методическим рекомендациям по отбо-

ру сибиреязвенных штаммов, предназначенных для конструирования вакцин» [15]. Способность штамма к капсуло- и токсинообразованию определяли *in vitro* по методу Н.П. Буравцевой [16] и *in vivo* на модели аутбредных белых мышей обоих полов (масса тела 18—20 г, ГНУ ВНИИВВиМ), а сорбцию конго красного — на агаре Лурия—Бертани с добавлением красителя [10].

Реверсibilitätность штамма проверяли путем проведения десяти последовательных слепых пассажей на аутбредных белых мышках (масса 18—20 г) и морских свинках (масса 250—400 г), температурную реактогенность — на морских свинках, кролике (ГНУ ВНИИВВиМ), овце и козе. Целевых животных (овцы, козленок) закупали в частных хозяйствах, благополучных по инфекционным болезням. До введения животных в эксперимент их выдерживали в карантине в течение 30 дней; в опытах использовали клинически здоровых животных, не вакцинированных ранее против сибирской язвы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На основании принятого в РФ порядка исследования новых сибиреязвенных вакцинных штаммов их оценка должна производиться в сравнении с эталонным вакцинным штаммом СТИ-1 (для здравоохранения) и 55-ВНИИВВиМ (для ветеринарии). Это положение касается культурально-морфологических и фенотипических признаков, которые и были исследованы в данной работе у штамма 363/11 в сравнении со свойствами эталонных вакцинных штаммов.

При предварительном изучении культурально-морфологических свойств естественно аттенуированного штамма *B. anthracis* 363/11 установлена его видовая типичность: при культивировании в жидких питательных средах бульон остается прозрачным; на дне формируется осадок, похожий на комочек ваты. На твердых питательных средах штамм образует матовые, шероховатые колонии R-, реже RO-формы, диаметром 3—4 мм. На средах, содержащих сыворотку крови лошади и в присутствии CO₂, а также в организме восприимчивых лабораторных животных не образует капсулу и продуцирует токсин, что проявляется в формировании трех полос преципитации при анализе токсинообразования по методу Н.П. Буравцевой [16].

Штамм существует в двух морфологических формах: вегетативной и споровой. В мазках с питательных сред грамположительные палочки располагаются в виде длинных цепочек, которые в местах их соединения выглядят обрубленными

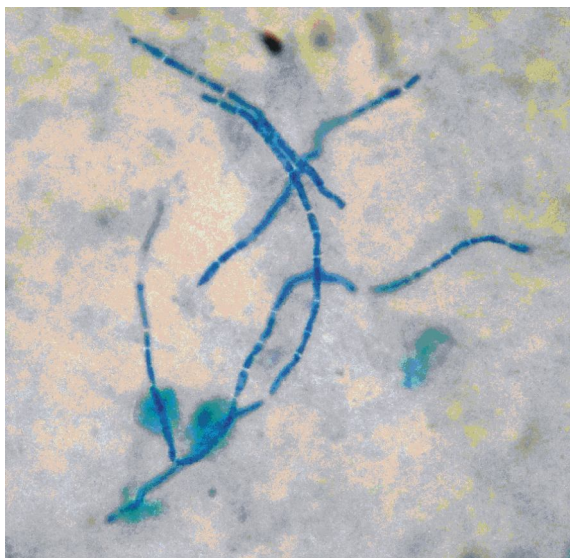


Рис. 1. Клетки штамма 363/11 в мазке-отпечатке, взятом из печени белой мыши (окраска по Михину, увеличение $\times 1000$)

или слегка вогнутыми. Споры, окрашенные по Циль-Нильсену, имеют овальную форму, располагаются в бактериальной клетке преимущественно центрально. Клетки не имеют жгутиков, неподвижны. *In vivo* (в организме белых мышей) формируют цепочки, состоящие из 4, 8, 16, 21 и более члеников (рис. 1).

Исследование биохимической активности нового штамма показало его отличие от применяющегося в настоящее время для иммунизации животных штамма 55-ВНИИВВиМ: клетки штамма 363/11 продуцировали ферменты, вызывающие лизис эритроцитов барана по α -типу, экспрессировали на высоком уровне гены протеаз и синтезировали протокатехоевую кислоту. По остальным признакам (ферментация целлобиозы, сахарозы, трегалозы с образованием кислоты без газа, отсут-

ствие способности разлагать аргинин, продукция щелочной фосфатазы, окисление глюкозы до ацетона, восстановление нитратов до нитритов, продукция каталазы) оба штамма практически не различались. В целом фенотипическая характеристика нового бескапсульного штамма 363/11 была идентична фенотипам вакцинных штаммов зарубежного происхождения — Sterne и Ихтиман и близка к фенотипу вирулентных культур (табл. 1) [17]. Кроме того, показано, что новый штамм 363/11 не является клонированным вариантом вакцинного штамма ВНИИВВиМ.

Штаммы 363/11 и 55-ВНИИВВиМ в одинаковой степени взаимодействуют с фагами *Fah*-ВНИИВВиМ и *Rd/Ph/6*: слабо чувствительны к первому фагу и подвергаются лизису вторым, а также обладают одинаковым набором плазмид вирулентности (табл. 2). О наличии у возбудителя плазмид принято судить по выявлению генов *pag*- и *cap*-, имеющих плазмидную локализацию: *pX01* (*pag*-ген) и *pX02* (*cap*-ген) (см. табл. 2, п. 11 и 12).

При определении остаточной вирулентности штамма 363/11 для лабораторных животных установлено, что показатель LD_{50} для аутбредных белых мышей составил $3,2 \cdot 10^5$ спор, а для морских свинок — свыше 10^8 спор. По показателям вирулентности для лабораторных животных новый штамм и штамм 55-ВНИИВВиМ несмотря на имеющиеся различия (см. табл. 2) по классификации Э.Н. Шляхова и Е.В. Груз [18] относятся к группе авирулентных культур.

Подтверждение отсутствия у штамма реверсibility (способности к восстановлению функции капсулообразования) проводили путем последовательного слепого пассирования через организм лабораторных животных. На 8-м пассаже с использованием морских свинок штамм 363/11 утратил способность к размножению *in vivo*, в то время как в организме белых мышей на 9-м пассаже

Таблица 1

Фенотипическая характеристика некоторых вакцинных штаммов

Наименование вакцинного штамма	Фенотип
363/11, Ихтиман, Sterne	$Hly^{\alpha}Prt^{+++}Ydp^{+}CR^{+}Tox^{+}Cap^{-}$
55-ВНИИВВиМ, Шуя-15, СТИ-1	$Hly^{\beta}Prt^{+}Ydp^{-}CR^{-}Tox^{+}Cap^{-}$

Примечание: Hly^{α} — тип гемолитической активности; Prt^{+++} — уровень протеолитической активности; Ydp^{+} — способность синтезировать протокатехоевую кислоту; CR^{+} — сорбция конго красного из среды; $Tox^{+}Cap^{-}$ — способность синтезировать *in vivo* и *in vitro* основные факторы патогенности (токсин и капсулу).

Биологические свойства штаммов 55-ВНИИВВиМ и 363/11

Признак	Фенотипическое проявление	
	55-ВНИИВВиМ	363/11
Морфология <i>in vitro</i>	Палочки, споры	Палочки, споры
Морфология <i>in vivo</i>	Палочки, соединенные в цепочки по 2, 4, 6 и иногда 8 членников	Палочки, соединенные в цепочки по 4, 8, 16, 21 и более членников
Подвижность	Отсутствует	Отсутствует
Окраска по Граму	Грамположителен	Грамположителен
Характер роста в мясо-пептонном бульоне	«Комок ваты» в прозрачном бульоне, формирование пристеночного кольца на 5-е сутки	«Комок ваты» в прозрачном бульоне
Рост на плотных питательных средах	R-Формы с типичными «локонами»	R и RO-формы с типичными «локонами»
Тип гемолиза, уровень продукции экзотоксина	β-Гемолиз, средний	α-Гемолиз, высокий
Чувствительность к фагу Fah-ВНИИВВиМ	Слабо чувствителен	Слабо чувствителен
Чувствительность к фагу Rd/Ph/6	Чувствителен (#)	Чувствителен (#)
Наличие капсулы	Отсутствует	Отсутствует
Продукция токсина <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i>	Продуцирует	Продуцирует
Наличие <i>rag</i> -гена	Присутствует	Присутствует
Наличие <i>cap</i> -гена	Отсутствует	Отсутствует
Показатель ЛД ₅₀ для аутбредных белых мышей	115,0 · 10 ⁵	3,162 · 10 ⁵
Показатель ЛД ₅₀ для морских свинок	Свыше 10 ⁸ спор	Свыше 10 ⁸ спор

Примечание: значок # является символом высокой чувствительности, соответствующей ++++.

наравне с типичными наблюдали образование карликовых и инволюционных форм колоний (рис. 2).

При оценке реактогенных свойств штамма установлено, что он слабореактогенен для морских свинок: при подкожном введении 10⁷ спор на месте введения образуются серозные отеки, редко с последующими изъязвлениями. Для кроликов, овец и коз при введении последним 10⁹ спор подкожно в области спины и бесшерстного участка подмышечной впадины штамм оказался слабо реактогенен и безвреден, соответственно. У овцы и козленка после введения 10⁹ спор (100-кратная им-

мунизирующая доза) наблюдали незначительное повышение температуры на протяжении 2—6 сут (рис. 3) и формирование серозного отека в месте введения (с ладонь человека), который к 7-му дню локализовался и уплотнялся до размера с грецкий орех.

У кролика каких-либо видимых реакций на введение спор штамма 363/11 не наблюдали.

Протективные свойства штамма изучали в серии экспериментов по определению показателей ИмД₅₀ для морских свинок против референс-заражающей культуры II вакцины Ценковского,

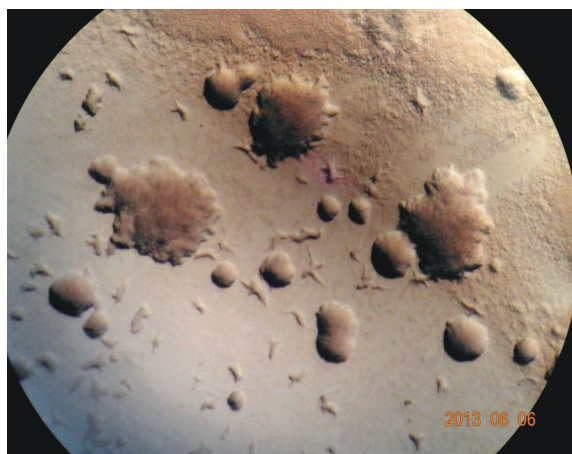


Рис. 2. Карликовые и инволюционные колонии штамма 363/11 (9-й пассаж на белых аутобредных мышках, увеличение $\times 100$)

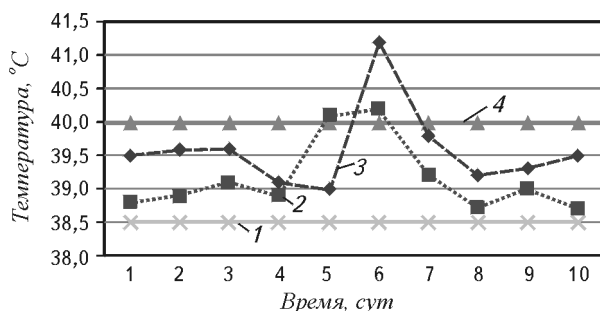


Рис. 3. Температурная реакция у животных после введения им 10^9 спор *B. anthracis* 363/11: 1, 4 — нижний и верхний пределы нормы температурной реакции; 2 — козленок; 3 — овца

штамм 71/12, и по сравнительной оценке напряженности иммунитета при контрольном заражении иммунизированных животных капсулообразу-

ющими вакцинными штаммами и полевыми изолятами *B. anthracis*.

Установлено, что показатель ИмД₅₀ для штамма 363/11 был в 10 раз ниже, чем для штамма 55-ВНИИВВиМ ($2,95 \cdot 10^4$ спор и $(2,9—3,4) \cdot 10^5$ спор, соответственно), т.е. для индукции у морских свинок иммунитета, предохраняющего 50% вакцинированных животных от гибели после введения спор штамма № 71/12 в дозе 200 ЛД₅₀, требуется в 10 раз меньшая вакцинирующая доза штамма 363/11, чем штамма 55ВНИИВВиМ.

Сравнительное изучение спектров защитного действия штаммов 363/11 и 55-ВНИИВВиМ оценивали в экспериментах на морских свинках с использованием референс-заражающих культур сибиреязвенного микроба (№ 71/12, 17JB, 76), капсулообразующего вакцинного штамма (Carbovax) и полевых изолятов, выделенных в разное время в различных регионах России (№ 81, 304, 364). Выбор полевых изолятов № 81 и 304 для оценки защитного спектра штамма обусловлен тем, что ранее нами были установлены существенные различия в генетических профилях этих изолятов и вакцинного штамма 55-ВНИИВВиМ, а также показана низкая протективная эффективность последнего против них [4]. Штамм 364 был выделен в Тульской области в 2011 г. от вакцинированной ранее штаммом 55-ВНИИВВиМ и заболевшей сибирской язвой телки.

Результаты экспериментов показали, что выживаемость морских свинок, вакцинированных спорами штамма 363/11 в дозе 10^6 и 10^7 и инфицированных референс-заражающими штаммами, была в среднем выше, чем морских свинок, вакцинированных штаммом 55-ВНИИВВиМ (табл. 3).

Вакцинация животных штаммом 363/11 защищала 100 %, 50 и 40 % морских свинок от зара-

Таблица 3

Протективные свойства штаммов 55-ВНИИВВиМ и 363/11 *B. anthracis* в испытаниях на морских свинках

Штамм <i>B. anthracis</i> , использованный для вакцинации	Защита вакцинированных животных от заражения различными сибиреязвенными штаммами (заражающая доза 200 ЛД ₅₀), %						
	71/12	76	81	304	364**	17JB	Carbovax
363/11	80	100*	100*	50	40	100	78
55-ВНИИВВиМ	80	100***	40***	25	10	87	100

Примечание: * прививочная доза штамма — 10^6 спор; ** заражающая доза штамма 1200 ЛД₅₀; *** данные И.А. Бакулова и В.А. Гаврилова [4].

Таблица 4

Напряженность иммунитета у овец, иммунизированных штаммами *B. anthracis* 55-ВНИИВВиМ и 363/11

Штамм <i>B. anthracis</i> для вакцинирования	Иммунизирующая доза, спор	Количество овец	Штаммы, использованные для заражения		
			№ 76	№ 81	№ 304
363/11	10^7	3	Выжила	Выжила	Выжила
55-ВНИИВВиМ	$1,2 \cdot 10^7$	3	Выжила	Пала	Пала

жения культурами вирулентных полевых изолятов *B. anthracis* штаммов № 81, 304, 364, соответственно, в то время как процент защиты вакцинированных штаммом 55-ВНИИВВиМ животных от указанных полевых изолятов составлял 40%, 25 и 10%, соответственно. При заражении капсулообразующим штаммом Carbovax вакцина из штамма 55-ВНИИВВиМ защищала от гибели 100 % привитых животных, а штамм 363/11 78% морских свинок. Протективная активность штаммов 363/11 и 55-ВНИИВВиМ в отношении культур референс-заражающих штаммов № 71/12 и 76 была одинаковой.

Напряженность иммунитета, индуцированного штаммами 363/11 и 55-ВНИИВВиМ, оценивали в опытах на овцах возрастом 1—1,5 года из стада, не подвергавшегося вакцинации против сибирской язвы (табл. 4). Овцам вводили под кожу по 10—12 млн. спор исследуемых штаммов в объеме 1 мл.

Через 21 день вакцинированных овец заражали путем внутрикожного введения спорных культур высоковирулентных сибиреязвенных штаммов в дозах, составляющих для овцы не менее 10 безусловно смертельных доз. Наблюдение за зараженными животными вели в течение 10 дней. Овцы, у которых сформировался напряженный иммунитет против соответствующего заражающего штамма, оставались клинически здоровыми. Невакцинированные животные погибали в течение 3—5 дней после заражения с признаками острой формы сибирской язвы. Специфический характер гибели овец подтверждался микроскопией мазков крови и бактериологическим анализом.

Результаты испытаний, представленные в табл. 3 и 4 свидетельствуют о том, что спектр защитного действия штамма 363/11 шире, чем у штамма 55-ВНИИВВиМ, т.е. иммунизация животных штаммом 363/11 (в отличие от штамма 55-ВНИИВВиМ) предохраняет их от заражения полевыми изолятами *B. anthracis* № 304 и 81, иммунологически не соответствующими штамму

55-ВНИИВВиМ. При исследовании сывороток крови вакцинированных штаммом 363/11 овец было установлено, что уровень агглютинирующих антител в них достигает титра 1:320 уже к 14-м суткам после вакцинации.

Таким образом, результаты проведенных экспериментов свидетельствуют о том, что новый естественно аттенуированный бескапсульный штамм 363/11 не уступает по иммунобиологическим свойствам вакцинному штамму 55-ВНИИВВиМ, индуцирует у животных выработку напряженного иммунитета против полевых изолятов, иммунологически не соответствующих штамму 55-ВНИИВВиМ, и может быть использован для разработки и совершенствования средств специфической профилактики сибирской язвы.

Получено 17.09.15

ЛИТЕРАТУРА

1. Эпизоотическая ситуация в Российской Федерации, 2014 г. [Электронный ресурс] URL: <http://fsvps.ru/fsvps-docs/ru/iac/2014/files/iac2014.pdf> (дата обращения: 29.03.2015).
2. Васина Н.К. Серологический мониторинг эффективности специфической профилактики сибирской язвы в ЦФОРФ / Н.К. Васина, Ю.О. Селянинов, И.Ю. Егорова // Ветеринар. патол. — 2012. — № 1. — С. 36—40.
3. Селянинов Ю.О., Егорова И.Ю. О некоторых причинах недостаточной эффективности мероприятий по специфической профилактике сибирской язвы в Российской Федерации: Актуальные проблемы болезней, общих для человека и животных. — Ставрополь: ООО «Экспо-Медиа», 2012. — С. 69—70.
4. Бакулов И.А. Иммунопрофилактика сибирской язвы животных / И.А. Бакулов, В.А. Гаврилов // Вестн. с.-х. науки. — 1991. — № 8. — С.128—131.
5. Буравцева Н.П., Фунтикова Т.Н., Цыганкова О.И., Проскураева В.А. Сравнительная характеристика иммуногенности и безвредности живых сибиреязвенных вакцин: Мат. науч.-практич. конф., посвященной 100-летию образования Противочумной службы России. Т. 2. — Саратов: РосНИПЧИ «Микроб», 1997. — С. 248.

6. Васильев П.Г., Иванов Ю.И., Садыков Н.С., Кожухов В.В., Зиганин Р.Ш., Дербина Л.М., Сенькин А.В. Чувствительность штаммов *B. anthracis*, выделенных из различных источников внешней среды, к видоспецифическим сибирезывенным бактериофагам: Мат. юбилейной науч. конф., посвященной 70-летию НИИ микробиологии МО РФ. — Киров: НИИ Микробиологии МО РФ, 1998. — С. 64.
7. Маринин Л.И., Онищенко Г.Г., Степанов А.В., Старицин Н.А., Померанцев А.П., Алексин В.А., Афанасьев С.С. Микробиологическая диагностика сибирской язвы. — М.: ВУНМЦ МЗ РФ, 1999. — 224 с.
8. Селянинов Ю.О. Иммунологическая и полевая эффективность противосибирезывенных вакцин / Ю.О. Селянинов, Н.С. Косяченко, Т.А. Севских, И.Ю. Егорова // Инф. болезни. — 2014. — Т. 12. — № S1. — С. 281.
9. Little S.F. Comparative efficacy of *B. anthracis* live spore vaccine and protective antigen vaccine against anthrax in the guinea pig / S.F. Little, G.B. Khudson // Infect. Immun. — 1986. — V. 52. — P. 509—512.
10. Микшиц Н.И. Иммуногенность рекомбинантных бациллярных штаммов с клонированным геном синтеза протективного антигена *Bacillus anthracis* / Н.И. Микшиц, О.М. Кудрявцева, М.Ф. Болотникова, Д.В. Шулепов, Л.В. Новикова, Ю.А. Попов, Т.Н. Щуковская, И.Г. Дроздов, В.В. Кутырев // Мол. генетика, микробиол. вирусол. — 2007. — № 3. — С. 15—21.
11. Chitlaru, T. Identification of *in vivo* expressed immunogenic proteins by serological analysis of *B. anthracis* / T. Chitlaru, O. Get, H. Grosfeld, I. Inbar, Y. Gozlan, A. Shafferman // Infect. Immunol. — 2007. — V. 75. — P. 2841—2852.
12. Аксенова Л.Ю., Буравцева Н.П., Еременко Е.И. Усовершенствование живой антибиотикоустойчивой сибирезывенной вакцины СТИ-ПР: Мат. 7-ой междунар. науч.-практич. конф. «Чрезвычайные ситуации международного значения в общественном здравоохранении в решениях Санкт-Петербургского саммита «Группы восьми» и санитарная охрана территорий государств-участников СНГ», 3—5 октября 2006 г., Оболенск. — Протвино: А-ПРИНТ ЗАО, 2006. — С. 133—134.
13. Буравцева Н.П., Фунтикова Т.Н., Цыганкова О.И. Иммуногенные свойства и безвредность живых сибирезывенных вакцин из штаммов 228/8 и СТИ-ПР-3: Тез. докл. науч. конф. «Актуальные вопросы эпидемиологии, профилактики и диагностики особо опасных инфекций». Ч. 1. — Ставрополь, НИИ Противочумный институт Кавказа и Закавказья МЗ СССР, 1989. — С. 36—39.
14. Егорова И.Ю., Селянинов Ю.О. Аттenuированный штамм *B. anthracis* для разработки средств специфической профилактики сибирской язвы // Патент РФ № 2544951, С12N 1/20, А61К 39/07. 2015.
15. Методические рекомендации по отбору сибирезывенных штаммов, предназначенных для конструирования вакцин. — Покров: ГНУ ВНИИВиМ РАСХН, 2006. — 39 с.
16. Буравцева Н.П., Еременко Е.И., Лысогова Е.В. Способ идентификации *B. anthracis* // Патент РФ № 2204607, С12Q1/04, С12N1/20. 2003.
17. Егорова И.Ю., Селянинов Ю.О., Цыбанов С.Ж., Сидоров И.И. Идентификация и типирование штаммов *B. anthracis* на основе фенотипических и генетических признаков: Мед. микробиол. — XXI век: Мат. Всероссийской науч.-практич. конф. — Саратов: ОАО «Приволжское книжное издательство», 2004. — С. 103—104.
18. Шляхов Э.Н., Груз Е.В. Титрация ЛД₅₀ на мышах как метод определения вирулентности сибирезывенных бацилл: Достижения и перспективы борьбы с сибирской язвой в СССР. Мат. X пленар. засед. межвед. комис. по борьбе с сибирской язвой. — М.: Изд-во Минздравоохр. СССР, 1978. — С. 97—99.

I.Yu. EGOROVA*, T.A. SEVSKII, and Yu.O. SELYANINOV

The National Research Institute for Veterinary Virology and Microbiology (NRIVVaM), Russ. Acad. Agric. Sci. 601125, Volginsky, Vladimir region Russia

e-mail: iegorova@list.ru

Immunobiological Characteristics of a New Acapsular *B. anthracis* 363/11 Strain

The results of the investigation of immunobiological characteristics of a new naturally attenuated acapsular *B. anthracis* strain 363/11 in comparison with the anthrax vaccine strain 55-VNIIVViM currently used both in this country and Russia's neighboring state are represented. The differences in the phenotypes in the above strains were established; for example, the new strain provided the lysis of sheep erythrocytes by the α rather than β -type; it has much more active proteases and unlike the vaccine strain, was capable of synthesizing protocatechoic acid. It was shown that the immunization of livestock by the new strain protected animals from death after they had been infected with *B. anthracis* field isolates against which the 55-VNIIVViM strain fails to raise the strong immunity. The new strain can be used for the development and/or improvement of specific anthrax preventive means.

Key words: anthrax, antigenic composition, immunogenicity, protectivity, vaccines.

* Author for correspondence.