

ОСОБЕННОСТИ ПАРАЗИТИЗМА В ВИРУСНО-БАКТЕРИАЛЬНОМ МИРЕ

Белоконов И.И., Гринченко Д.Н.

Харьковская государственная зооветеринарная академия,
г. Харьков, Украина

Введение. О существовании паразитизма среди микроорганизмов известно давно. Проблема эта чрезвычайно актуальна, так как имеет непосредственное отношение к решению многих проблем, таких как получение новых вакцинных штаммов бактерий, используемых в промышленной микробиологии, к проблеме вакцинации и созданию иммунитета у животных [5, 6].

К паразитизму в микромире следует относить такие явления, как бактериофагию, лизогению, носительство плазмид, 1 - элементов, транспозонов, а также возникающие ассоциации на молекулярном, субклеточном уровнях с возможным их участием в формировании паразитизма на более высоких ступенях развития [4, 8, 9].

Наиболее хорошо изученной формой паразитизма является бактериофагия. Общим признаком всех бактериофагов является внутриклеточный паразитизм, который определяется процессами транскрипции и трансляции, генетических детерминант и наличием особых механизмов для сборки зрелых вирионов. По характеру взаимодействия с бактериями фаги делятся на вирулентные и умеренные [7, 8].

Вирулентные фаги при заражении бактерий переходят в вегетативное состояние, т. е. в состояние размножения внутри бактериальной клетки, которая, как правило, всегда лизируется. Образовавшиеся зрелые вирионы освобождаются из клетки и переходят в питательный субстрат. Исходя из этого следует, что вирулентные фаги могут существовать в состоянии зрелого фага и вегетативного [7].

В отличие от вирулентных, умеренные фаги могут существовать в трех состояниях - в состоянии зрелого фага, вегетативного и профага. Эти фаги в ходе продуктивной фазы способны вызывать два пути развития инфекций - литической, по своему смыслу подобной литическому циклу вирулентных фагов, и лизогенной, которая характеризуется тем, что геном умеренного фага переходит в состояние профага. Клетки, несущие профаг, называют лизогенными. Каждая лизогенная бактерия дает начало лизогенному клону. Бактерии такого клона способны в течение неограниченного времени сохранять потенциальную способность продуцировать фаг [7]. В ряде случаев профаги некоторых умеренных фагов могут интегрировать в бактериальную хромосому, либо профаги могут присутствовать в клетке в виде самостоятельных репликанов.

Лизогенное состояние бактерий фенотипически проявляется двумя основными признаками: способностью микроба продуцировать фаг и наличием у них резистентности к инфекции, либо может переходить в состояние литического развития после индукции, вызывающей инактивацию репрессора и последующую экспрессию генов, ответствен-

ных за осуществление литического цикла.

Явление лизогении широко распространено среди бактерий разных видов, в том числе и среди тех, которые используются в вакцинном производстве [7, 8]. Способность поддержания лизогенного состояния бактерий обеспечивается синхронностью репликации профага и генома микроорганизма, а также наличием белка репрессора, выключающего все гены, обеспечивающие литический цикл развития.

Плазмиды бактерий представляют собой внехромосомные генетические детерминанты, передающиеся из поколения в поколение микроорганизмов. Они имеют собственные гены, детерминирующие специфические признаки бактерий, обладают способностью к репликации и большим сходством с вирусами, что дает основание отнести их к живым биологическим единицам. Плазмиды, проникая в бактериальную клетку, в отличие от вирусов, не размножаются в ней бесконтрольно и не подавляют функции бактериальных хромосом.

Существуя в бактериальной клетке, плазмиды сами контролируют образование числа возможных своих копий и своим присутствием, в ряде случаев, обеспечивают выживание бактерий в экстремальных условиях, наделяя их дополнительными селективными свойствами. Плазмиды контролируют синтез различных факторов патогенности у многих бактерий.

Распространение плазмид в природе происходит по вертикали, т. е. путем передачи от родительской клетки дочерним в процессе клеточного размножения, а также путем переноса между клетками в популяции бактерий, т. е. по горизонтали.

Наиболее изученными плазмидами бациллы антракса являются P_{x01} и P_{x02}. Плазмида P_{x01} определяет синтез сложного экзотоксина, в составе которой имеется три гена - ген суа - определяет синтез фактора отечности (ОФ), ген Рад - кодирует синтез протективного антигена (РА); ген LEF - детерминирует синтез летального фактора (ЛФ). Все три компонента токсина действуют синхронно. Плазмида P_{x02} детерминирует синтез капсулы, которая является важнейшим фактором вирулентности сибиреязвенной бациллы. Капсула предохраняет *Bac. anthracis* от фагоцитоза. Утрата капсулы приводит к потере вирулентности [1, 2, 3].

Материалы и методы исследований. Изучение субмикроскопического строения споровой вакцины СТИ осуществлялось методом электронной микроскопии ультратонких срезов содержимого ампулы препарата. Фиксация исследуемого материала проводилась глутаральдегидом и четырехокисью осмия по методу Келенбергера - Ритера, с последующей заливкой в эпоксидные смолы. Получение ультратонких срезов осуществлялось с помощью ультрамикротомата УМТП-4. Контрастирование ультратонких срезов проводилось уксуснокислым свинцом по методу Рейнольдса. После обнаружения в вакцинной суспензии бактериофагов была проведена серия исследований с использованием методов очистки и концентрирования бактериальных вирусов. Очистку бактериофагов, содержащихся в вакциной суспензии, проводили методом дифференциального центрифугирования, начиная с 3000 об/мин и завершая ультрацентрифугированием, которое обеспечивало осаждение и концентрацию бактериофагов. Для изучения строения бактериофагов был использован метод нанесения фаговой суспензии на специальные сеточки, покрытые формваровой

пленкой. Контрастирование полученных образцов проводилось фосфорновольфрамовой кислотой (ФВК). Полученные образцы исследовали в электронном микроскопе ЭМВ - 100 Л с разрешающей способностью 3Å^0 .

Результаты исследований. Поводом для электронно-микроскопических исследований вакцины СТИ послужило то, что в последние годы этот препарат потерял свое значение в ветеринарной медицине и был заменен на другие вакцины, которые производят из штаммов 55 ВНИИВВ и М в России и из штаммов «СБ» и К - 79Z - в Украине.

Изучение вакцины СТИ было начато с получения информации об ультраструктуре бацилл и возможного наличия бактериофагов. После первых же исследований ультраструктуры бактерий, находящихся в вакцине и обеспечивающих формирование противосибиреязвенного иммунитета у животных, было установлено сравнительно низкое содержание спор и большое количество разрушенных клеток. Кроме того, четко просматривалось наличие структур, которые идентифицировались как бактериофаги. Создавалось впечатление, что вакцина СТИ представляет собой суспензию разрушенных клеток и бактериофагов.

Развитие инфекций способно происходить двумя путями - литическим, по своему смыслу подобным литическому циклу вирулентных фагов, и лизогенным, который характеризуется тем, что геном умеренного фага переходит в состояние профага, способного присутствовать в клетке в виде самостоятельного репликона.

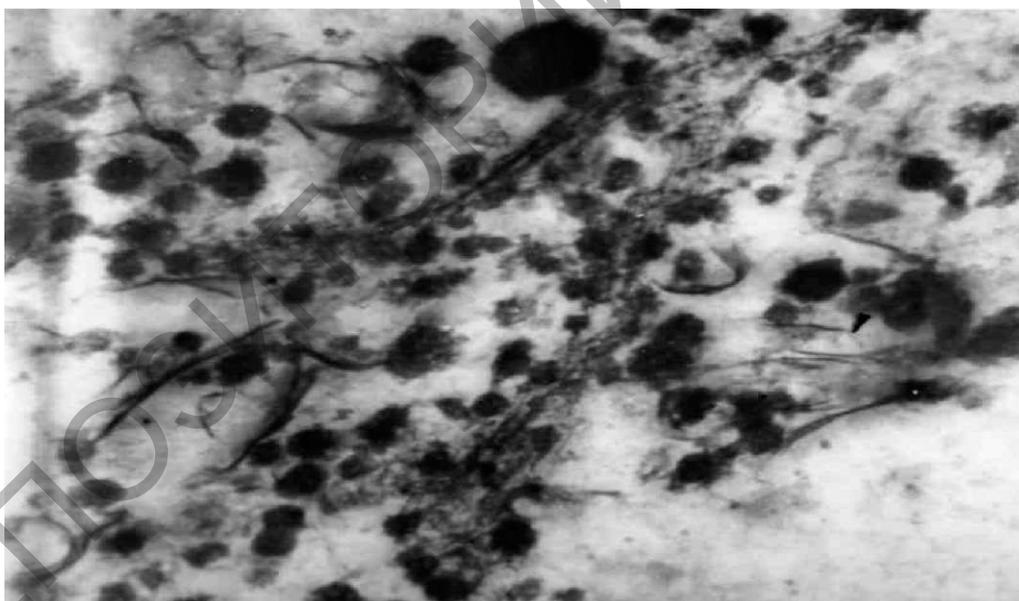


Рисунок 1 - Ультраструктура бацилл в составе вакцины СТИ

Известно, что для создания активного иммунитета против сибирской язвы необходимо ввести в организм животного 20-25 миллионов живых спор для крупных животных (лошади, крупный рогатый скот, верблюды) и 10 миллионов для мелких животных (овцы, козы), но такого количества живых спор в 1 см^3 данной вакцины не имелось. Отсюда следует, что главной причиной снижения иммуногенных свойств вакцины СТИ могло быть низкое содержание живых спор.

Таким образом, мы можем полагать о существовании реальной

угрозы потери производственных штаммов, применяемых для получения вакцин и продуктов микробного синтеза в результате контаминации их бактериофагами. В этой связи, необходимы специальные разработки для сохранения вакцинных и производственных штаммов от действия бактериофагов, тем более, если учесть, что во всем мире насчитывается всего несколько высокоиммуногенных штаммов, которые пригодны для производства сибиреязвенных вакцин (55ВНИИВВ и М. Sterne и др.).

Заключение. На основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Методом электронной микроскопии установлена высокая контаминация вакцины СТИ сибиреязвенным бактериофагом, что, возможно, послужило причиной снижения иммуногенных свойств данного препарата.

2. Популяция сибиреязвенного штамма СТИ - 1, по всей видимости, представляет собой лизогенную систему, в которой осуществляется два пути развития инфекции: лизогенный, характеризующийся тем, что геном умеренного фага переходит в состояние профага, который может существовать в клетке в виде самостоятельных репликонов, и литический, по своему смыслу подобный литическому циклу вирулентных бактериофагов.

3. Сибиреязвенным вакцинным штаммам необходимы надежные меры биозащиты от контаминации бактериофагами.

Литература. 1. Бакулов, И. А. Оценка эффективности 10- летнего применения вакцины против сибирской язвы животных из штамма 55- ВНИИВВ и М /И. А. Бакулов, В. А. Гаврилов // *Ветеринария*. - 1994. - №8. - С. 11-15. 2. Бакулов, И.А. Сибирская язва животных и людей /И. А. Бакулов, В. А. Гаврилов // *Ветеринарная газета*. - 2000. - №8. 3. Бакулов, И. А. Сибирская язва (Антракс) /И. А. Бакулов, В. А. Гаврилов, В. В. Селиверстов. - Владимир, 2001. - С. 281. 4. Белоконов, И. И. Паразитоценозы в микромире /И. И. Белоконов, В. М. Апатенко, Л. А. Белоконова // *Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини : збірник наукових праць. Ветеринарної науки*. - 2001. - Вип. 7 (31). - С. 20-21. 5. Бусол, В. Спізоотологічний моніторинг / В. Бусол, В. Постой, А. Блатко // *Ветеринарна медицина* - 2002. - №3. - С. 12-14. 6. Заверюха, А. І. Перебє Сибїрки на щепленому погол'в' / А. І. Заверюха // *Ветеринарна медицина України*. - 2000. - № 9. - С. 17. 7. Ипатенко, Н. Г. Испытание сибиреязвенных бактериофагов / Н. Г. Ипатенко [та нш.] // *Ветеринария*. - 2000. - № 6. - С. 22-23. 8. Ипатенко, Н. Г. Профилактика сибирской язвы в России / Н. Г. Ипатенко, С. И. Бахтаров, Н. В. // *Ветеринария*. - 2000. - №4. - С 6-8. 9. Лобзин, Ю.В., Волжанин В.М., Захаренко С.М. Сибирская язва / Ю. В. Лобзин, В. М. Волжанин, С. М. Захаренко // *КМАХ-2002, ТИ*. - С. 33. 10. Пименов Е. В., Кожухов В. В., Строчкою Ю. И. Создание вакцин против сибирской язвы. Человек и его здоровье. Режим доступа : [http^b./septemder.ru/2002\02\6.htm/](http://b.septemder.ru/2002/02/6.htm/). 11. *Anthrax manual of diagnostic Test and Vaccines for Terrestrial Animals, Sthedition*. - 2004. - P.17.