**СОДЕРЖАНИЕ**

1. Возбудитель сибирской язвы
2. Морфология.
3. Культивирование
4. Биохимические свойства.
5. Токсинообразование
6. Антигенная структура
7. Устойчивость.
8. Патогенность.
9. Патогенез.
10. Лабораторная диагностика.
* Бактериоскопия.
* Посев на питательные среды.
* Биологическая проба.
* Идентификация бациллы антракса.
* Проба бактериофагом (лизабельность фа­гом).
* Иммунофлюоресцентный тест.
* Серологическое исследование.
1. Иммунитет и средства специфической профилактики.
2. Список литературы

**ПАТОГЕННЫЕ БАЦИЛЛЫ ВОЗБУДИТЕЛЬ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ**

Возбудитель сибирской язвы — Bacilla anthracis (Cohn, 1872) — типичный представитель патогенных бацилл. Относится к семейству Васillасеае и роду Bacilus. Этот микроб часто называют бациллой антракса.

Сибирская язва (Anthrax) — зооантропоноз. К ней восприим­чивы животные многих видов, особенно травоядные, и человек. Инфекционный процесс протекает преимущественно остро с явле­ниями септицемии или с образованием различной величины кар­бункулов. Болезнь регистрируют в виде спорадических случаев, возможны энзоотии и даже эпизоотии. Название болезни «сибир­ская язва» предложил в 1789 г. С. С. Андриевский, который изучал ее на Урале и в Сибири.

Микроскопически бацилла сибирской язвы обнаружена Поллен-дером в 1849 г. Французские исследователи Давен и Рейс (1850), а в России профессор Дерптского ветеринарного училища Брауэлл (1857) отметили также в крови больных и погибших от сибирской язвы овец наличие нитевидных неподвижных и неветвящихся телец. Брауэль одним из первых выявил бациллы в крови человека, умершего от сибирской язвы, и экспериментально воспроизвел типичное заболевание у животных при заражении их кровью, содержащей микроскопически видимые палочки. Однако значение этих палочек оставалось невыясненным до 1863 г., когда Давен окончательно установил роль этих образований в качестве пато­генных возбудителей сибирской язвы.

Чистые культуры бациллы антракса выделил в 1876 г. вначале Р. Кох, а затем Л. Пастер; независимо один от другого они при помощи этих культур воспроизвели болезнь у животных.

В России первую культуру сибиреязвенного микроба получил В. К. Высокович в 1882 г.

Исследованиями Р. Коха в 1876 г. было доказано, что вегета­тивные клетки сибиреязвенного микроба обладают способностью формировать споры, в 1888 г. Серафини обнаружил капсулу.

**Морфология.**

Бацилла антракса довольно крупная (1 —1,3 \* 3,0—10,0 мкм) палочка, неподвижная, образующая капсулу и спору. Микроб встречается в трех формах: в виде вегетативных различной величины клеток (капсульных и бескапсульмых), в виде спор, заключенных в хорошо выраженный экзоспориум, и в виде изолированных спор. В окрашенных препаратах из крови и тканей больных или погибших от сибирской язвы животных бактерии располагаются одиночно, попарно и в виде коротких цепочек (3—4 клетки); концы палочек, обращенных друг к другу, прямые, резко обрубленные, свободные — слегка закругленные. Иногда цепочки имеют форму бамбуковой трости; в этом случае микробные клетки как бы обрублены, отчасти вдавлены в середину и в местах сочленения симметрично утолщены. Такие морфологические формы встречаются у бактерий, образовавших капсулу.

В мазках из культур, дающих типичный рост на плотных и жидких питательных средах, палочки располагаются длинными цепочками. Бактерии из культур с атипичным диффузным ростом в жидких средах образуют короткие цепочки.

Возбудитель сибирской язвы интенсивно окрашивается спиртоводными растворами основных анилиновых красителей. Мазки и отпечатки из тканей погибших животных, а также мазки из крови очень хорошо окрашиваются метиленовой синью Леффлера. Пре­параты из культур можно окрашивать 1—2 мин разведенным 1:10 фуксином Циля и метиленовой синью. Данная бактерия (вегета­тивная форма) грамоположительная, но в молодых и старых культурах встречаются и грамотрицательные клетки.

В организме или при культивировании на искусственных питательных средах с большим содержанием нативного белка и СО2 сибиреязвенная бацилла образует выраженную капсулу .

Сибиреязвенная бацилла при неблагоприятных условиях суще­ствования обладает способностью формировать споры. В каждой вегетативной клетке, или спорангии, образуется только одна эндоспора, чаще располагающаяся центрально, реже — субтерми­нально . Споры бациллы антракса овальные, иногда округлые, сильно преломляющие свет образования. Размеры зрелых спор колеблются в пределах 1,2—1,5 мкм в длину и 0,8—1,0 мкм в поперечнике, незрелые споры (проспоры) несколько меньше. При температуре ниже 12 и выше 42 0С, а также в живом организме или невскрытом трупе, в крови и сыворотке животных споры не образуются.

**Культивирование.**

Сибиреязвенный микроб по способу дыхания относят к факультативным анаэробам: он одинаково хорошо раз­вивается в условиях повышенной аэрации, в том числе и в атмосфере кислорода, и в анаэробных условиях.

Бацилла антракса нетребовательна к питательным средам и хорошо растет на универсальных средах (МПБ, МПА, МПЖ, картофеле, молоке). Кроме того, ее выращивают на различных растительных субстратах: настоях соломы, сена, экстрактах гороха, сои, вики, ломтиках вареного картофеля, свеклы, моркови и т. п.

Оптимальная температура роста на МПА 35—37 °С, в бульоне 32—33 °С. При температуре ниже 12 и выше 45 °С не растет. Оптимум рН сред лежит в пределах 7,2—7,6, однако значение рН от 6,7 до 8,5 не угнетает рост культур.

На поверхности МПА в аэробных условиях при температуре 37 °С первые признаки роста можно заметить через 3 ч с момента посева, 17—24-часовые культуры состоят из серовато-беловатых тонкозернистых колоний с серебристым оттенком, похожих на снежинки. Диаметр колоний не превышает 3—5 мм. От их краев отходят завитки, косички, которые состоят из параллельно лежащих длинных нитей. Свойство бациллы образовывать на плотных питательных средах завитки с выходящими за пределы колонии нитями дало повод сравнивать колонии этого микроба с мифической головой Медузы, а также гривой льва. Такие колонии имеют шероховатый рельеф, они характерны для типичных вирулентных штаммов и обозначаются как R-форма.

На сывороточном агаре и свернутой лошадиной сыворотке в присутствии 10—50 % углекислоты обнаруживаются гладкие полу­прозрачные колонии (S-форма), а также слизистые (мукоидные), тянущиеся за петлей колонии (М-форма), состоящие из капсульных палочек. Бескапсульные варианты на указанных средах образуют шероховатые R-формы колоний. В МПБ и других жидких средах сибиреязвенная бацилла (R-форма) через 16—24 ч на дне пробирки образует рыхлый белый осадок, надосадочная жидкость остается прозрачной, при встряхивании бульон не мутнеет, осадок разби­вается на мелкие хлопья. Ряд штаммов растет в виде нежных отдельных хлопьев, взвешенных в столбике бульона, которые через 48 ч оседают на дно. Некоторые штаммы на 3—4-е сут дают рыхлое пристеночное кольцо по мениску бульона, пленка на поверхности среды не образуется.

В сыворотке крови и жидких сывороточных средах (среда ГКИ) растет интенсивно с образованием обильного хлопьевидного осадка, капсульные варианты синтезируют мощные капсулы.

Весьма характерный рост отмечают в столбике желатин при посеве уколом. В этой среде на 2—5-е сут появляется желтовато-белый стержень, от которого под прямым углом радиально отходят нежные боковые отростки — более длинные по мере приближения к поверхности среды и значительно укорачивающиеся в направле­нии книзу. Такая культура напоминает елочку, перевернутую верхушкой вниз. Постепенно верхний слой желатин начинает разжижаться, принимая сначала форму воронки, затем мешочка. В молоке размножается быстро, вырабатывает кислоту и через 2—4 дня свертывает его с последующей пептонизацией сгустка. На картофеле образует обильный, сухой, серо-белый налет, который иногда приобретает кремовый оттенок. Агаровые и бульонные культуры некоторых штаммов интенсивно окрашиваются в корич­невый цвет вследствие окисления тирозина. Сибиреязвенная ба­цилла также хорошо размножается в 8—12-суточных куриных эмбрионах, вызывая их гибель в период 2—4 дней с момента заражения.

**Биохимические свойства.**

У бациллы антракса выявлены фер­менты: липаза, диастаза, протеаза, желатиназа, дегидраза, цитохромоксидаза, пероксидаза, каталаза и др. Некоторые штаммы образуют сероводород, особенно это свойство выражено в средах, богатых пептонами; эта бактерия выделяет аммиак. Ферментирует с образованием кислоты без газа глюкозу, мальтозу, медленно сахарозу, трегалозу, фруктозу и декстрин. На средах с глицерином и салицином возможно слабое кислотообразование. Арабинозу, рамнозу, галактозу, маннозу, раффинозу, инулин, маннит, дульцит, сорбит, инозит не сбраживает. Утилизирует цитраты, образует ацетилметилкарбинол и вследствие этого дает положительную реакцию Фогеса — Проскауэра. Синтезирует лецитиназу и мед­ленно коагулирует растворы желтка куриного яйца. Редуцирует метиленовый синий и восстанавливает нитраты в нитриты. Выра­батывает желатиназу, а также протеазу и достаточно быстро гидролизует желатин и свернутую сыворотку.

**Токсинообразование.**

Бацилла антракса образует сложный эк­зотоксин. Он состоит из трех компонентов (факторов), которые обозначаются: эдематогенный фактор (EF), протективный антиген (РА) и летальный фактор (LF) или соответственно факторы I, II, III. Их синтезируют капсульные и бескапсульные варианты мик­роба. Эдематогенный фактор вызывает местную воспалительную реакцию — отек и разрушение тканей.

В химическом отношении это липопротеин. Протективный антиген — носитель защитных свойств, обладает выраженным иммуногенным действием. В чистом виде нетоксичен. Летальный фактор сам по себе нетоксичен, но в смеси со вторым фактором (РА) вызывает гибель крыс, белых мышей и морских свинок. Протективный антиген и летальный фактор — гетерогенные в молекулярном отношении белки. Все три компонента токсина составляют синергическую смесь, оказывающую одновременно эдс-матогенное и летальное действия, каждый из них обладает выра­женной антигенной функцией и серологически активен.

Инвазивные свойства микроба обусловлены капсульным поли­пептидом d-глутаминовой кислоты и экзоферментами.

**Антигенная структура.**

В состав антигенов бациллы антракса входят неиммуногенный соматический полисахаридный комплекс и капсульный глутаминполипептид. Полисахаридный антиген не со­здает иммунитета у животных и не определяет агрессивных функций бациллы, его всегда обнаруживают как у вирулентных, так и авирулентных штаммов. В связи с тем что полисахарид тесно связан с телом бактериальной клетки, он получил название соматического антигена. Сибиреязвенный соматический антиген очень часто обозначается буквой С, капсульный полипептид — буквой Р. Капсульный антиген бациллы антракса представлен сложным полипептидом d-глутаминовой кислоты и рассматривается как группоспецифическое вещество, так как он дает перекрестные серологические реакции с полипептидом B.subtilis, B.cеrcus и B.megaterium. Активными антигенами также являются все три компонента сибиреязвенного экзотоксина.

**Устойчивость.**

Устойчивость и длительность выживания у вегетативных клеток и спор возбудителя сибирской язвы различны. Первые относительно лабильны, вторые достаточно ре­зистентны.

В невскрытом трупе вегетативная форма микроба в результате воздействия протеолитических ферментов разрушается уже в течение 2—3 сут, в зарытых трупах может сохраняться до 4 дней, через 7 сут завершается лизис бактерий даже в костном мозге. В желудочном соке при температуре 38 0С гибнет через 30 мин, в замороженном мясе при минус 15 °С остается жизнеспособной 15 дней, в засоленном мясе — до 1,5 мес. Навозная жижа, смешанная с сибиреязвенной кровью, убивает вегетативные клетки через 2—3 ч, споры же остаются в ней вирулентными в течение месяцев, в запаянных ампулах с бульонными культурами могут оставаться жизнеспособными и вирулентными до 63 лет, в почве — более 50 лет.

К воздействию различных химических веществ вегетативные клетки малоустойчивы. Спирт, эфир, 2 %-ный формалин, 5 %-ный фенол, 5—10 %-ный хлорамин, свежий 5 %-ный раствор хлорной извести, перекись водорода их разрушают в течение 5 мин.

Для уничтожения споровой формы возбудителя требуется более длительная экспозиция. Этиловый спирт в концентрациях от 25% до абсолютного убивает споры в течение 50 дней и более, 5 %-ный фенол, 5—10 %-ный раствор хлорамина обезвреживают споры через несколько часов и даже суток, 2 %-ный раствор формалина — через 10—15 мин, 3 %-ный раствор перекиси водорода — через 1 ч, 4 %-ный раствор перманганата калия — через 15 мин, 10 %-ный раствор гидроокиси натрия — через 2'ч.

Вегетативные клетки также малоустойчивы и к температурным факторам. При нагревании до 50—55 °С гибнут в течение 1 ч, при 60 0С — через 15 мин, при 75 °С — через 1 мин, при кипячении — мгновенно. Они чувствительны к высушиванию, однако при мед­ленном высушивании наступает спорообразование и микроб не гибнет. Низкие же температуры их консервируют. Так, при минус 10 0С бактерии сохраняются 24 дня, при минус 24 °С — 12 дней.

Воздействие прямого солнечного света обезвреживает бактерии через несколько часов.

На споры высушивание вообще губительно не действует. Сухой жар при температуре 120—140 0С убивает споры только через 2—3 ч, при 150 0С — через 1 ч, текущий пар при 100 0С — через 12—15 мин, автоклавирование при 110°С — за 5—10 мин, кипячение — через 1 ч.

Возбудитель сибирской язвы проявляет высокую чувствитель­ность к пенициллину, хлортетрациклину и левомицетину, а также к литическому действию лизоцима. Бактериостатическим эффектом на протяжении 24 ч обладает свежевыдоенное молоко коров.

**Патогенность.**

К возбудителю сибирской язвы восприимчивы все виды млекопитающих. В естественных условиях чаще болеют овцы, крупный рогатый скот и лошади, могут заражаться ослы имулы. Чрезвычайно восприимчивы козы, буйволы, верблюды и северные олени. Свиньи менее чувствительны. Среди диких живо­тных восприимчивы все травоядные. Известны случаи заболевания собак, волков, лисиц, песцов, среди птиц — уток и страусов.

**Патогенез.**

Бацилла антракса обладает выраженной инвазивно-стью и легко проникает через царапины кожных покровов или слизистых оболочек. Заражение животных происходит преимуще­ственно алиментарно. Через поврежденную слизистую пищевари­тельного тракта микроб проникает в лимфатическую систему, а затем в кровь, где фагоцитируется и разносится по всему организму, фиксируясь в элементах лимфоидно-макрофагальной системы, по­сле чего снова мигрирует в кровь, обусловливая септицемию.

Размножаясь в организме, бацилла антракса синтезирует капсульный полипептид и выделяет экзотоксин. Капсульное вещество ингибирует опсонизацию, в то время как экзотоксин разрушает фагоциты, поражает центральную нервную систему, вызывает отек, возникает гипергликемию и повышается активность щелочной фосфатазы.

В терминальной фазе процесса в крови снижается содержание кислорода до уровня, несовместимого с жизнью. Резко нарушается метаболизм, развивается вторичный шок и наступает гибель животных.

Возбудитель сибирской язвы из организма может выделяться с бронхиальной слизью, слюной, молоком, мочой и испражнениями.

**Лабораторная диагностика.**

Для лабораторного исследования на сибирскую язву чаще всего направляют ухо павшего животного. Можно взять кровь из надреза сосуда и нанести толстую каплю на предметное стекло. При вынужденном убое или подозрении на сибирскую язву во время вскрытия осторожно отбирают кусочки селезенки, печени, измененные лимфоузлы. От трупов свиней берут кусочки отечных тканей в области глотки и заглоточные лимфо­узлы. Материал должен быть свежим: в разложившихся тканях бацилла антракса лизируется. Исследуют также пробы почвы, фуража, воды, шерсти и кожевенно-мехового сырья; объектами для серологического исследования по реакции преципитации служат пробы кожевенно-мехового сырья и разложившиеся ткани.

Исследование проводят по схеме: микроскопия мазков, выделе­ние и изучение свойств чистой культуры, биопроба на лабораторных животных, при необходимости серологические исследования — реакция преципитации и иммунофлюоресцентный анализ.

**Бактериоскопия.**

Из патологического материала для микроскопии готовят мазки, часть красят по Граму и обязательно на капсулы по Михчну, Ребигеру, Ольту и др. Важным диагно­стическим признаком является обнаружение типичных по морфо­логии капсульных палочек.

Посев на питательные среды. Исходный мате­риал засевают в МПБ и на МПА (рН 7,2—7,6), инкубируют посевы при температуре 37 °С в течение 18—24 ч, при отсутствии роста их выдерживают в термостате еще 2 сут. Культуры просматривают, определяют их типичность, готовят препараты, микроскопируют. В мазках из культур обнаруживают бескапсульные палочки и споры.

Биологическая проба. Осуществляется на белых мышах, морских свинках, кроликах, одновременно с посевом материала на питательные среды. Белых мышей заражают подкож­но в заднюю часть спины (по 0,1—0,2 мл), морских свинок и кроликов — под кожу в область живота (по 0,5—1,0 мл). Мыши погибают через 1—2 сут, морские свинки и кролики — через 2-—4 сут. Павших животных вскрывают, делают мазки и посевы из крови сердца, селезенки, печени и инфильтрата на месте инъекции исследуемого материала.

Идентификация бациллы антракса. В при­роде существует ряд видов аэробных споровых сибирсязвенноподобных сапрофитов. К ним относят: B.cereus, B.megaterium, B.mycoides и B.subtilis. Так как они по морфологии и культуральным признакам во многом сходны с бациллой антракса, то часто при лабораторных исследованиях возникает необходимость решить вопрос: выделена культура возбудителя сибирской язвы или подобного ему сапрофита?

Идентификацию и дифференциацию культуры проводят на основании главных и дополнительных признаков. К первым отно­сятся патогенность, капсулообразованис, тест „жемчужного оже­релья", лизабельность фагом, иммунофлюоресцентный тест. Допол­нительными являются неподвижность, отсутствие гемолиза, лецитиназная активность, образование фосфатазы.

Бацилла антракса патогенна для лабораторных животных, сибиреязвенноподобные сапрофиты не вызывают их гибель, за иск­лючением B.cereus, которая может убить белых мышей при внутрибрюшинном заражении. Массивную с четкими контурами капсулу в организме образует только возбудитель сибирской язвы.

Тест „жемчугового ожерелья" (предложили в 1953 г. Иснссн и Клеемейер) основан на подавлении пенициллином синтеза клеточ­ной стенки бациллы антракса и образовании сферопластов. Испы­туемую трехчасовую бульонную культуру высевают на МПА в чашки Петри: в первой чашке содержится 0,5, во второй — 0,05 ЕД пенициллина на 1 мл среды, третья — контрольная. Посевы инкубируют 3 ч при температуре 37 0С. На агаре с пенициллином бацилла антракса растет в виде цепочек, состоящих из шарообраз­ных форм, напоминающих ожерелье из жемчуга. Сибирсязвснноподобные сапрофиты на агаре с пенициллином этого феномена не дают.

**Проба бактериофагом (лизабельность фа­гом).**

Сибиреязвенный фаг, взаимодействуя с гомологичной куль­турой, вызывает ее лизис. Эта реакция высокоспецифична, и ее применяют для идентификации бациллы антракса, а также диф­ференциации ее от ложносибиреязвенных бацилл. В качестве индикаторных у нас в стране выпускают два штамма фагов: «К» ВИЭВ и «Гамма» МВА. Разработаны пробирочный метод, микро­метод и реакция нарастания титра фага.

**Иммунофлюоресцентный тест.**

 Идентификация возбудителя сибирской язвы при помощи флюоресцирующих антител — ориентировочный метод и требует дополнительного изучения вирулентности, капсулообразования, фагочувствительности.

Подвижность устанавливается микроскопически или путем по­сева культуры уколом в столбик 0,3 %-ного агара. Неподвижные культуры растут только по ходу укола, подвижные — дают диффузный рост.

Возбудитель сибирской язвы неподвижен, многие спорообразу­ющие аэробные сапрофиты подвижны.

Гемолитическая активность не может быть надежным критерием дифференциации бациллы антракса, как правило, эта бактерия не гемолизирует эритроциты барана или же лизирует их очень медленно, но этот признак у разных штаммов вариабелен.

Лецитиназная активность у возбудителя сибирской язвы низкая: этот микроб или очень медленно свертывает, или вообще не свертывает желток куриного яйца. B.cereus интенсивно синтезирует лецитиназу и вызывает свертывание желтка через 6—10 ч. Не образует бацилла антракса и фосфатазу, в то время как сапро­фитные споровые аэробы ее продуцируют.

**Серологическое исследование.**

Для обнаружения сибиреязвенных антигенов применяют реакцию преципитации по Асколи. Эту реакцию используют для исследования на сибирскую язву кожевенного и мехового сырья, загнившего патологического материала, в котором происходит лизис бациллы антракса, а также для исследования свежего патологического материала и серологи­ческой идентификации выделенных культур. Реакция преципита­ции по Асколи — достоверный и широко применяемый в практике тест серологической диагностики сибирской язвы. В качестве серологического теста, главным образом для изучения антигенного спектра бациллы антракса, применяют реакцию диффузионной преципитации (РДП).

Для выявления свежих случаев и ретроспективной диагностики сибирской язвы у человека предложен аллерген антраксин (Э. Н. Шляхов, 1961). Им выявляют и специфическую поствак­цинальную сенсибилизацию у сельскохозяйственных животных. Лучшие результаты получены у крупного рогатого скота и овец.

**Иммунитет и средства специфической профилактики.**

Сомати­ческий полисахарид и капсульный полипептид глутаминовой кис­лоты бациллы антракса не способны обусловить синтез защитных антител. Эту функцию у бациллы антракса выполняет протективный антиген: будучи одним из факторов патогенности, он обус­ловливает формирование иммунитета к этой инфекции по типу антитоксического.

В настоящее время защитные антитела обнаружены при помощи РСК, РДП и непрямого варианта метода флюоресци­рующих антител в сыворотках животных, вакцинированных сибиреязвенным протектииным антигеном или живыми споровыми вакцинами.

Переболевание животного сибирской язвой или же его вакци­нация сопровождается развитием гиперчувствительности замедлен­ного типа. Аллергенной активностью обладают фракции бациллы антракса с преимущественным содержанием белка.

В результате естественного заражения и переболевания сибир­ской язвы у животных возникает длительный иммунитет.

Активная защита животных от сибирской язвы путем вак­цинации — надежное средство профилактики данного заболева­ния. С этой целью применяют живые споровые сибиреязвенные вакцины.

Н. Н. Гинсбург в 1940 г. селекционировал из культуры вирулентного штамма «Красная Нива» на свернутой нормальной сыворотке лошади вакцинный бескапсульный отекообразующий мутант СТИ-1. С 1942 г. вакцину, приготовленную из этого варианта, стали использовать для профилактики сибирской язвы животных, она быстро зарекомендовала себя как высокоиммунный препарат и получила название вакцины СТИ. В настоящее время эту вакцину в споровой форме применяют для вакцинации живо­тных против сибирской язвы. Иммунитет наступает через 10 дней и длится не менее 12 мес.

Предложена новая вакцина против сибирской язвы из штамма № 55, которая выпускается в жидком и лиофилизированном виде из бескапсульного авирулентного штамма № 55 в споровой форме. Вакцину вводят однократно подкожно, начиная с 3-месячного возраста животных. Иммунитет наступает через 10 дней и сохра­няется не менее 1 года.

Для лечения и пассивной профилактики применяют противоси­биреязвенную сыворотку и глобулин. Иммунитет наступает через несколько часов и сохраняется до 14 дней.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:**

1. Н.А. Радчук Ветеринарная микробиология и иммунология. М: Агропромиздат, 1991.
2. Я.В. Коляков. Ветеринарная микробиология. М: Колос. 1965.
3. Н.Р. Асонов Микробиология. М: Агропромиздат, 1989.