

Стабильность свойств вакцинного сибиреязвенного штамма СТИ-1 при длительном хранении

Л.И.Маринин, Н.А.Шишкова, А.Н.Мокриевич, Г.М.Титарева, И.А.Дятлов

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Для иммунопрофилактики сибирской язвы у людей в нашей стране более 70 лет используется живая вакцина СТИ, которую готовят на основе бескапсульного вакцинного штамма СТИ-1, селекционированного в 1940 г. Н.Н.Гинсбургом с сотрудниками. Применение живых вакцин всегда должно сопровождаться постоянным наблюдением и периодической проверкой иммуногенных свойств вакцинных штаммов. Однако при приготовлении и длительных сроках хранения свойства вакцинных препаратов могут изменяться и не соответствовать требованиям отраслевого стандартного образца (ОСО) вакцины сибиреязвенной. Задачей нашего исследования является изучение стабильности биологических, генетических свойств и иммуногенности вакцинного сибиреязвенного штамма СТИ-1 разных сроков приготовления и хранения. Показано, что культуры, приготовленные в 1956, 1992, 2023 гг., сохранили свойства исходного штамма и соответствовали требованиям ОСО вакцины сибиреязвенной. В то же время культура штамма СТИ-1, изолированная из коммерческой вакцины, выпускаемой ранее НПО «Бактериофаг» (Тбилиси), показала изменения культурально-морфологических свойств и снижение иммуногенности.

Ключевые слова: сибиреязвенная вакцина, штамм, культура, сохраняемость, свойства

Для цитирования: Маринин Л.И., Шишкова Н.А., Мокриевич А.Н., Титарева Г.М., Дятлов И.А. Стабильность свойств вакцинного сибиреязвенного штамма СТИ-1 при длительном хранении. Бактериология. 2025; 10(1): 35–43. DOI: 10.20953/2500-1027-2025-1-35-43

Stability of properties of the anthrax vaccine strain STI-1 during long-term storage

L.I.Marinin, N.A.Shishkova, A.N.Mokrievich, G.M.Titareva, I.A.Dyatlov

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

For immunoprophylaxis of anthrax in people in our country, the live STI vaccine has been used for more than 70 years, which is prepared on the basis of the non-capsule vaccine strain STI-1, selected on May 29, 1940 by N.N.Ginsburg and his staff. The use of live vaccines should always be accompanied by constant observation and periodic verification of the immunogenic properties of vaccine strains. The objective of our study is to study the stability of the biological, genetic properties and immunogenicity of the vaccine anthrax strain STI-1 at different preparation times. It is shown that crops prepared in 1956, 1992, 2023, retained the properties of the original strain and met the requirements of the industry standard anthrax vaccine (ASV). At the same time, a culture of the STI-1 strain, isolated from a commercial vaccine previously produced by SPA "Bacteriophage" (Tbilisi), showed changes in cultural and morphological properties and a decrease in immunogenicity.

Key words: anthrax vaccine, strain, culture, persistence, properties

For citation: Marinin L.I., Shishkova N.A., Mokrievich A.N., Titareva G.M., Dyatlov I.A. Stability of properties of the anthrax vaccine strain STI-1 during long-term storage. Bacteriology. 2025; 10(1): 35–43. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2025-1-35-43

Для корреспонденции:

Маринин Леонид Иванович, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологии сибирской язвы отдела особо опасных инфекций ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0003
E-mail: info@obolensk.org

Статья поступила 19.06.2024, принята к печати 31.03.2025

For correspondence:

Leonid I. Marinin, MD, PhD, Leading Researcher, Laboratory of Anthrax Microbiology, Department of Particularly Dangerous Infections, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0003
E-mail: info@obolensk.org

The article was received 19.06.2024, accepted for publication 31.03.2025

Для иммунопрофилактики сибирской язвы у людей в нашей стране более 70 лет используется лицензированная и выпускаемая в промышленных масштабах живая вакцина СТИ. Датой ее создания принято считать 29 мая 1940 г., когда Н.Н.Гинсбург с сотрудниками селекционировали стойкий бескапсульный мутант (вариант) сибиреязвенного микроба, получивший шифр СТИ-1 по названию Санитарно-технического института (ныне ФГБУ «48-й Центральный научно-исследовательский институт Министерства обороны Российской Федерации») [1, 2]. При рассевах высоковирулентного сибиреязвенного штамма «Красная Нива» на плотной питательной среде по Schaefer (свернутая нормальная лошадиная сыворотка) постоянно, наряду с основной массой слизистых колоний с капсульными бациллами, получали сухие колонии, содержащие бескапсульные формы. Большая часть этих колоний сохраняла способность к диссоциации, и при повторных рассевах наряду с единичными сухими вырастал большой процент слизистых колоний. И лишь клон, обозначенный СТИ-1, оказался стойким – при многочисленных пассажах на питательных средах и через организм животных он не изменил свои свойства. Штамм-вариант характеризовался отсутствием способности продуцировать капсулу в оптимальных для этого условиях, в том числе и в организме животных. В соответствии с утратой способности капсулообразования штамм проявлял резко сниженную вирулентность для лабораторных животных (белых мышей, морских свинок) и был практически апатогенен для кроликов и овец [1, 3]. По результатам специально проведенных экспериментов установлена наследственная закрепленность отмеченных особенностей штамма СТИ-1.

Пройдя 70-летние испытания практикой, живая сибиреязвенная вакцина СТИ-1 может быть признана одним из достижений советской микробиологии и прикладной иммунологии.

Длительные наблюдения показали необходимость периодического контроля стабильности основных наследственных свойств вакцинных штаммов. Применение живых вакцин должно сопровождаться постоянным контролем сохранности культуральных и иммуногенных свойств вакцинных штаммов. Снижение иммуногенных свойств вакцинных штаммов описано в отношении туляремиальных и чумных вакцин, а также сибиреязвенных вакцинных штаммов Ценковского и СТИ-3 [2–4]. Изменения свойств штаммов проявлялись в характере роста культур на питательных средах – в так называемой диссоциации культур.

На протяжении всего времени существования вакцины СТИ систематически велись наблюдения за вакцинными штаммами СТИ-1 и СТИ-3. В 1960 г. были приготовлены эталонные культуры штаммов СТИ-1 (серия 34) и СТИ-3 (серия 35), свойства которых проверялись комиссионно в июне 1960 г. (в состав комиссии входили Н.Н.Гинсбург, А.Л.Тамарин, В.Р.Архипова, М.Н.Варданашвили) в Государственном контрольном институте им. Л.А.Тарасевича [5]. Комиссия отметила в бульонных культурах и на агаре типичный рост, свойственный указанным штаммам, и соответствие культурально-морфологических свойств требованиям Технических условий на сибиреязвенную живую вакцину СТИ. Одновременно проведенная проверка иммуногенности вакцины СТИ на кроликах и овцах на Орловской биофабри-

ке показала высокую эффективность штаммов СТИ-1 и СТИ-3.

Однако в 1964 г. появились сообщения об изменении характера роста и морфологии культуры эталонов штамма СТИ-1 1960 и 1957 гг. приготовления. В высевах на питательный агар эталонной культуры 1957 г. и, в еще большей степени, эталона 1960 г. приготовления [6] наблюдали повышенное количество РО-форм колоний, в бульонных культурах – склонность к диффузному росту с помутнением среды. На основании появления в культурах «атипичных» форм роста авторы сделали вывод об изменении иммуногенности эталона 1960 г. без проверки на животных, что связали с накоплением в микробной популяции «сапрофитизирующихся» мутантов, которые могут обладать селективными преимуществами и вытеснять исходные высокоиммуногенные микробные особи» [6, 7].

В связи с этим были изучены свойства различных линий вакцинного штамма СТИ-1 и его музейных культур ранних поколений, длительно хранившихся в споровой форме с минимальным числом пересевов. В результате исследований установили, что всем требованиям соответствовала культура штамма СТИ-1, высушенная в 1943 г. из 3-й генерации после получения штамма и сохраняемая без пересевов в течение 18 лет в условиях низких температур. На основе этой культуры приготовили культуру 4-й генерации, которая по культурно-морфологическим свойствам, реактогенности и иммуногенности соответствовала первоначальной исходной культуре вакцинного штамма СТИ-1. После изучения свойств высушенная споровая культура была рекомендована в качестве нового эталона вакцинного штамма СТИ-1 (1962 г.) для производства живой сибиреязвенной вакцины [8].

Через 20 и 30 лет хранения культуры вакцинного штамма СТИ-1 свойства были исследованы Р.А.Салтыковым с сотрудниками [4]. Были изучены биологические свойства споровых культур, высушенных в 1944 г. и хранившихся при температуре не выше 10°C, а также вакцины СТИ, изготовленной в 1972 г. в институте им. Л.А.Тарасевича. Было отмечено, что основные биологические свойства (культурально-морфологические, безвредность и иммуногенность) за 30 лет сохранились без изменений. Наблюдалось лишь замедление прорастания спор в культуре после 30 лет хранения. На морских свинках и кроликах, иммунизированных разными препаратами вакцины СТИ, отмечали высокую иммунологическую эффективность.

Разработка молекулярно-генетических методов позволяет проводить оценку не только культурально-морфологических свойств, но и показателей, позволяющих оценивать генетическую стабильность и генетическую идентичность вакцинных штаммов.

За последние годы в России были проведены широкие исследования по изучению генетических особенностей возбудителя сибирской язвы, в том числе вакцинного штамма СТИ-1 [9–12]. Было показано, что геном штамма СТИ-1 представлен хромосомой и плазмидой рХ01, которая включает детерминанты синтеза компонентов экзотоксина: отечного фактора (*суа*), летального фактора (*lef*) и протективного антигена (*pag*). *Pag* является основным иммуногеном вакцинного штамма СТИ-1 [13].

Основные исследования по типированию штаммов сибир-

реязвенного микроба были проведены Р.Keim et al. [14, 15]. Авторы разработали систему многолокусного анализа вариабельных тандемных повторов (MLVA – multiple-locus variable-number tandem repeat analysis), позволяющую дифференцировать штаммы *B. anthracis* по восьми маркерным локусам: шести хромосомным (VrrA, VrrB1, VrrB2, VrrC1, VrrC2 и CG3) и двум плазмидным маркерам (pXO1-aat и pXO2-at). Ценность предложенного метода обеспечивала многолокусность анализа, наличие значительной вариабельности по каждому из локусов, возможность оценки как хромосомных, так и плазмидных локусов. Авторы исследовали 426 сибиреязвенных штаммов со всего мира и распределили их по восьми группам. Им удалось исследовать только один штамм российского происхождения – СТИ-1. Отсутствие восьмого маркерного локуса, ассоциированного с плазмидой pXO2, не дало возможности отнести этот штамм к какому-либо из 89 генотипов, но было четко доказано, что он относится к подгруппе A1.a.

Немного ранее была предложена комплексная система праймеров для идентификации *B. anthracis*, основанная на амплификации *pag*, *суа*, *lef* генов плазмиды pXO1, *сар* генов плазмиды pXO2 и хромосомного маркера (*Ba813*) гена хромосомной последовательности [16, 17]. Праймерами служили олигонуклеотиды, комплементарные к выявленным локусам генома сибиреязвенного микроба: *pag*, *lef*, *суа*, *сар* и *Ba813*. Схемы типирования были основаны на анализе переменного числа тандемных повторов (VNTR – variable number tandem repeat).

P.Le Fleche et al. использовали вариант VNTR-типирования, основанный на анализе минисателлитов (повторяющихся единиц длиннее 9 п.н.) в области гена *bclA*, детерминирующего синтез гликопротеина Vca – Seb-Vams [18]. Метод позволяет, по данным разработчиков, анализировать результаты с помощью горизонтального электрофореза в агарозном геле и не требует секвенирования амплификатов. Предложено использовать данный методический подход для анализа генетического разнообразия штаммов *B. anthracis* по 14 хромосомным полиморфным локусам – минисателлитам с вариабельным числом тандемных повторов Geb-Vams. Эта схема типирования, по сравнению с типированием по Р.Keim et al., позволяет выявлять различия между генотипами по большому количеству локусов, что обеспечивает дополнительные возможности генетической дифференциации близких по происхождению штаммов возбудителя сибирской язвы.

В коллекции «ГКПМ-Оболensk» находятся на хранении несколько вариантов вакцинного штамма СТИ-1 из разных источников и разных сроков хранения. Одной из задач контроля качества медицинских иммунобиологических препаратов является сравнение их с ОСО. У штаммов, предназначенных для воспроизведения, проверяются показатели, характеризующие свойства препарата и его компонентов. Для каждой партии живой сибиреязвенной вакцины стандартными аттестуемыми показателями являются: общая концентрация спор, процент живых спор, определение посторонней микрофлоры, стандартность препарата, стабильность, однородность, специфическая безопасность и иммуногенность, которые должны контролироваться в течение срока ее хранения. С учетом современного развития молекулярно-генетических исследований, характеристики партий вакцинных препаратов должны быть дополнены MLVA-, VNTR-

типированием и секвенированием образцов. На наш взгляд, такая проверка вакцинных штаммов необходима с целью контроля стабильности штаммов, находящихся на хранении, так и сохранности эталонной культуры с установленными молекулярно-генетическими характеристиками.

Цель исследования – изучение культурально-морфологических, иммунобиологических, молекулярно-генетических свойств четырех вариантов вакцинного сибиреязвенного штамма СТИ-1, находящихся на хранении, и оценка их стабильности.

Материалы и методы

В работе использовались споровые культуры вакцинного штамма СТИ-1 разных мест приготовления и разных сроков хранения из коллекции «ГКПМ-Оболensk» (табл. 1). Некоторые культуры приготовлены на основе штамма, выделенного из коммерческих вакцин (Тбилисского НИИВС НПО «Бактериофаг» и 48 ЦНИИ МО РФ). Все культуры хранились в 30% водном растворе глицерина при температуре $4 \pm 2^\circ\text{C}$.

Оценку биологических, генетических свойств и иммуногенности проводили по существующим методикам. Иммуногенность определяли по иммунному индексу (ИИ) – частное от деления LD_{50} для вакцинированных на LD_{50} для интактных животных [19].

Тестирование ДНК вариантов штамма СТИ-1 провели методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с набором праймеров *pag*, *lef*, *суа*, *сар*, *Ba813*, комплементарных к выявленным локусам генома сибиреязвенного микроба по ранее описанной методике [14, 15], а также молекулярным типированием методом MLVA по 24 локусам – по 7 локусам из 8 [16] и 17 локусам [18].

Праймеры для MLVA при типировании по схеме Р.Keim et al. были синтезированы на фирме Amersham Pharmacia Biotech в соответствии с последовательностями, приведенными в работе Р.Keim et al. [16]. Прямые праймеры были помечены Sy^{TM5} амидитом (Pharmacia, 27-1801-02) для использования в автоматическом секвенаторе ALFII (Amersham Pharmacia Biotech). Эти же праймеры при подготовке фрагментов ДНК для секвенирования были синтезированы фирмой «Литех».

Выделение тотальной ДНК исследуемых культур проводили методом фенольной экстракции. Полученные образцы оценивали спектрофотометрически на чистоту и готовили раствор ДНК в концентрации 1 мкг/мл. Количество матрич-

Таблица 1. Споровые культуры вакцинного штамма СТИ-1
Table 1. Spore cultures of the vaccine strain STI-1

№	Партия / Batch	Год закладки / Year of storage	Место производства / Place of production
1.	22	1956	НИИЭГ МО РФ, г. Свердловск / RIEH of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sverdlovsk
2.	923	1992	ВНИИ ПМ, г. Оболensk / SRCAMB, Obolensk
3.	289	2023	ЦНИИ МО РФ, г. Киров / CRI of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Kirov
4.	55	1990	НПО «Бактериофаг», г. Тбилиси / NPO "Bacteriophage", Tbilisi

Таблица 2. Биологические свойства споровых культур вакцинного штамма СТИ-1
 Table 2. Biological properties of spore cultures of the vaccine strain STI-1

Партия, год закладки / Batch, year of storage	Показатель / Indicator	Требования нормативных документов / Requirements of regulatory documents	Соответствие / Compliance
22 (1956) 923 (1992) 289 (2023) 55 (1990)	Внешний вид споровой культуры / Appearance of spore culture	Жидкость серовато-белого цвета с желтоватым оттенком, расслаивающаяся в статических условиях с образованием легко ресуспендируемого осадка / A greyish-white liquid with a yellowish tint, which separates under static conditions to form an easily resuspended sediment.	Да/Yes Да/Yes Да/Yes Да/Yes
22 (1956) 923 (1992) 289 (2023) 55 (1990)	Общая концентрация спор / Total spore concentration	$5,0 \times 10^9$ – $1,0 \times 10^{10}/\text{см}^3$	Да/Yes Да/Yes Да/Yes Нет/No
22 (1956) 923 (1992) 289 (2023) 55 (1990)	Концентрация живых спор (КОЕ) / Concentration of live spores (CFU)	$3,1 \times 10^9/\text{см}^3$	Да/Yes Да/Yes Да/Yes Нет/No
22 (1956) 923 (1992) 289 (2023) 55 (1990)	Количество розовых спор при окраске по Цилю–Нильсену	90%	Да/Yes Да/Yes Да/Yes Нет/No
22 (1956) 923 (1992) 289 (2023) 55 (1990)	Культурально-морфологические свойства / Cultural and morphological properties	Неподвижные грамположительные клетки с обрубленными концами, одиночные, парные, собранные в цепочки / Non-motile, gram-positive cells with truncated ends, single, paired, collected in chains	Да/Yes Да/Yes Да/Yes Да/Yes
22 (1956) 923 (1992) 289 (2023) 55 (1990)	Капсулообразование / Capsule formation	В организме и на питательных средах капсулу не образует / It does not form a capsule in the body or on nutrient media	Да/Yes Да/Yes Да/Yes Да/Yes
22 (1956) 923 (1992) 289 (2023) 55 (1990)	Рост на питательных средах / Growth on nutrient media	На плотной питательной среде из триптического гидролизата рыбной муки через 48 ч роста при температуре $36 \pm 1^\circ\text{C}$ вырастают плоские, шероховатые, матовые колонии R-формы с неровными краями диаметром 2,5–5,0 мм. В жидкой питательной среде через 2–3 суток выращивания при температуре $36 \pm 1^\circ\text{C}$ – рост в виде «комка ваты» на дне сосуда без помутнения среды / On a dense nutrient medium made from tryptic hydrolysate of fish meal, after 48 hours of growth at $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$, flat, rough, matte colonies of the R-form with uneven edges with a diameter of 2.5–5.0 mm grow. In a liquid nutrient medium, after 2–3 days of growth at $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$, growth in the form of a “cotton wool lump” at the bottom of the vessel without turbidity of the medium	Да/Yes Да/Yes Да/Yes Нет/No
22 (1956) 923 (1992) 289 (2023) 55 (1990)	Спорообразование	Через 4–5 суток выращивания на плотной питательной среде из триптического гидролизата рыбной муки с пониженным содержанием аминокислотного азота при $32 \pm 1^\circ\text{C}$ в 80–90% клеток образуются центрально расположенные овоидные споры, окрашивающиеся по Цилю–Нильсену в розовый цвет / After 4–5 days of cultivation on a dense nutrient medium of tryptic hydrolysate of fish meal with a reduced content of amino nitrogen at $(32 \pm 1)^\circ\text{C}$, centrally located ovoid spores are formed in 80–90% of the cells, staining pink according to Ziehl-Neelsen	Да/Yes Да/Yes Да/Yes Да/Yes
22 (1956) 923 (1992) 289 (2023) 55 (1990)	Отношение к фагам / Attitude to phages	Лизируется фагами K-ВИЭВ и FachВНИИВВиМ / Lysed by phages K-VIEV and Fah VNIIVViM	Да/Yes Да/Yes Да/Yes Да/Yes
22 (1956) 923 (1992) 289 (2023) 55 (1990)	Биохимические свойства / Biochemical properties	Отдельные клоны обладают гемолитической активностью, не обладают лецитиназной и фосфатазной активностью / Some clones have hemolytic activity and lack lecithinase and phosphatase activity	Да/Yes Да/Yes Да/Yes Нет/No
22 (1956) 923 (1992) 289 (2023) 55 (1990)	Вирулентность / Virulence	LD_{50} при подкожном заражении белых мышей $1,0 \times 10^6$ спор / LD_{50} for subcutaneous infection of white mice 1.0×10^6 spores	Да/Yes Да/Yes Да/Yes Да/Yes

22 (1956)	Фенотип / <i>Phenotype</i>	Cap-Tox+	Да/Yes
923 (1992)			Да/Yes
289 (2023)			Да/Yes
55 (1990)			Да/Yes
22 (1956)	Дополнительные сведения / <i>Additional information</i>	Тест «жемчужного ожерелья» положительный / <i>Pearl necklace test positive</i>	Да/Yes
923 (1992)			Да/Yes
289 (2023)			Да/Yes
55 (1990)			Да/Yes
22 (1956)	Способ и условия хранения / <i>Method and conditions of storage</i>	В 30% водно-глицериновом растворе при температуре $4 \pm 2^\circ\text{C}$ / <i>In a 30% water-glycerin solution at a temperature of $4 \pm 2^\circ\text{C}$</i>	Да/Yes
923 (1992)			Да/Yes
289 (2023)			Да/Yes
55 (1990)			Да/Yes

ной ДНК составляло 100–500 нг, конечная концентрация праймеров – 0,2–0,4 мкМ.

Для определения нуклеотидных последовательностей Vrr-областей ПЦР-амплификаты клонировали в векторе pUC19 и секвенировали с использованием ALFexpress™AutoRead™ Sequencing Kit (Amersham Pharmacia Biotech). Определение нуклеотидных последовательностей и размеров фрагментов проводили на автоматическом секвенаторе ALFexpressII (Amersham Pharmacia Biotech) в соответствии с инструкцией фирмы-изготовителя.

Для типирования по схеме P.Le Fleche et al. [18] праймеры заказывали на НПФ «СИНТОЛ» (Россия).

Определение размеров ПЦР-ампликонов проводили стандартным способом по показателю электрофоретической подвижности в геле агарозы (1,2%) с последующим окрашиванием бромистым этидием или в полиакриламидном геле (6%) с последующим окрашиванием серебром в сравнении с известными маркерами молекулярных масс (100 или 1000 bp ladder).

Результаты исследования и их обсуждение

В табл. 2 приведены результаты исследований биологических свойств спорных культур вакцинного штамма СТИ-1 разных приготовлений и разных сроков хранения.

Исследования показали, что культуры, приготовленные в

1956, 1992, 2023 гг., сохранили свойства исходного штамма и соответствовали требованиям ОСО вакцины сибиреязвенной [20]. Однако исследования свойств коммерческой вакцины СТИ, изготовленной в НПО «Бактериофаг» (г. Тбилиси), показали значительную гетерогенность популяции в культуре по морфологии колоний, характеру роста в бульоне, ферментативной активности, токсинообразованию.

Неоднородность популяции вакцинного штамма СТИ-1 в коммерческой вакцине НПО «Бактериофаг» выявили и другие исследователи [9, 21].

В эксперименте на белых мышах была определена вирулентность по величине LD₅₀, которая колебалась от 8×10^5 до 1×10^6 спор. На морских свинках и золотистых хомяках была оценена иммуногенность свойств четырех вариантов вакцинного сибиреязвенного штамма СТИ-1, находящихся на хранении.

Через 20 дней иммунизированных и интактных животных заразили подкожно разными дозами вирулентного штамма *B. anthracis* Ч-7 или тест-заражающего штамма *B. anthracis* 71/12 второй вакцины Ценковского. На основании полученных результатов рассчитали величины LD₅₀ и ИИ, приведенные в табл. 3 и 4.

Исследования показали высокую иммуногенность вакцины СТИ-1 на основе 3-й генерации, приготовленные в 1956, 1992, 2023 гг. на разных технологических площадках. Одновременно отметили недостаточную эффективность

Таблица 3. Иммуногенность спорных культур штамма СТИ-1 в эксперименте на морских свинках
Table 3. Immunogenicity of spore cultures of strain STI-1 in an experiment on guinea pigs

Иммунизация вакциной (партия, год закладки) / <i>Immunization with vaccine (batch, year of production)</i>	Показатели иммуногенности при заражении / <i>Immunogenicity indices during infection</i>			
	вирулентным штаммом Ч-7 / <i>virulent strain Ch-7</i>		штаммом 71/12 второй вакцины Ценковского / <i>strain 71/12 of the second Tsenkovsky vaccine</i>	
	LD ₅₀ , спор/spores	ИИ/II	LD ₅₀ , спор/spores	ИИ/II
СТИ-1, партия 22, 1956 г. / <i>STI-1, lot 22, 1956</i>	$6,8 \times 10^4$	1000	$1,0 \times 10^6$	1000
СТИ-1, партия 923, 1992 г. / <i>STI-1, lot 923, 1992</i>	$7,5 \times 10^4$	1088	$2,8 \times 10^6$	2800
СТИ-1, партия 289, 2023 г. / <i>STI-1, lot 289, 2023</i>	$5,9 \times 10^4$	867	$1,5 \times 10^6$	1500
СТИ-1, партия 55, 1990 г. / <i>STI-1, lot 55, 1990</i>	$2,2 \times 10^4$	323		
Невакцинированные / <i>Not vaccinated</i>	68	–	$1,0 \times 10^3$	–

Таблица 4. Иммуногенность споровых культур штамма СТИ-1 в эксперименте на золотистых хомяках
 Table 4. Immunogenicity of spore cultures of strain STI-1 in an experiment on golden hamsters

Иммунизация вакциной (партия, год закладки) / Immunization with vaccine (batch, year of production)	Величина LD ₅₀ (спор) вирулентного штамма Ч-7 для хомяков / LD ₅₀ value (spores) of virulent strain Ch-7 for hamsters		ИИ / Immunity Index (II)
	иммунизированных / immunized	интактных / intact	
СТИ-1, партия 22, 1956 г. STI-1, lot 22, 1956	843 ± 41	3 ± 2	281
СТИ-1, партия 923, 1992 г. STI-1, lot 923, 1992	3160 ± 52	9 ± 4	351
СТИ-1, партия 289, 2023 г. STI-1, lot 289, 2023	1000 ± 38	3 ± 2	333
СТИ-1, партия 55, 1990 г. STI-1, lot 55, 1990	521 ± 43	4 ± 3	128

ИИ – частное от деления LD₅₀ для вакцинированных на LD₅₀ для интактных животных. / II is the quotient of LD₅₀ for vaccinated animals divided by LD₅₀ for intact animals.

коммерческой вакцины НПО «Бактериофаг». Пониженную эффективность коммерческой вакцины НПО «Бактериофаг» можно связать с длительными последовательными пассажами эталонного штамма СТИ-1 на питательных средах при изготовлении очередных партий препарата. Это привело к тому, что в составе популяции штамма СТИ-1 разные клоны отличались по иммуногенности, причем различия составляли десятки раз [4].

При исследовании генетических свойств вариантов штамма СТИ-1 на 1-м этапе провели тестирование ДНК в ПЦР с набором праймеров *rag*, *lef*, *суа*, *сар*, *Ва* 813, комплементарных к выявленным локусам генома сибиреязвенного микроба по методу Ramisse and Patra [15]. На рис. 1 приведены примеры электрофореграмм ПЦР с праймерами *Ва* 813 и *rag* для исследованных штаммов.

Анализ результатов ПЦР со всеми используемыми праймерами показал, что все четыре варианта культур СТИ-1 идентичны и являются «полноценными» вакцинными штаммами *B. anthracis*. В ПЦР выявлены четыре из пяти видоспецифических ПЦР-фрагментов – *суа*, *rag*, *lef* и *Ва* 813.

Отсутствует ПЦР-продукт с праймером *сар*, который характерен для капсульного штамма сибиреязвенного микроба.

Для генотипирования штаммов использовали метод многолокусного VNTR-типирования с использованием шести хромосомных – *VrrA*, *VrrB1*, *VrrB2*, *VrrC1*, *VrrC2* и *Cg3* и одного плазмидного маркера – *PXO1* [16]. Результаты определения величин варьируемых фрагментов по этим локусам приведены в табл. 5. Определение нуклеотидных последовательностей и размеров фрагментов проводили на автоматическом секвенаторе ALFexpress II фирмы Amersham Pharmacia Biotech с в соответствии с инструкцией фирмы-изготовителя.

Анализ результатов VNTR-типирования с использованием шести хромосомных – *VrrA*, *VrrB1*, *VrrB2*, *VrrC1*, *VrrC2* и *Cg3* и одного плазмидного маркера – *PXO1*, представленных в таблице 5, свидетельствует, что размеры фрагментов *VrrA*, *VrrC1*, *VrrC2* партии 55 (коммерческая вакцина НПО «Бактериофаг») отличаются от размеров этих же фрагментов других партий [16].

Для определения нуклеотидных последовательностей *Vrr*-областей ПЦР-амплификаты клонировали в векторе pUC19 и секвенировали с использованием ALFexpress™ AutoRead™ Sequencing Kit фирмы Amersham Pharmacia Biotech. Нами были секвенированы семь фрагментов варианта штамма СТИ-1 партии 923.

Секвенирование клонированных фрагментов показало, что вариант штамма СТИ-1 партии 923 по локусу *CG3* является типичным представителем подгруппы A1.a, т.к. имеет аллель *CG3-153*, который, согласно данным P.Keim et al. [16],

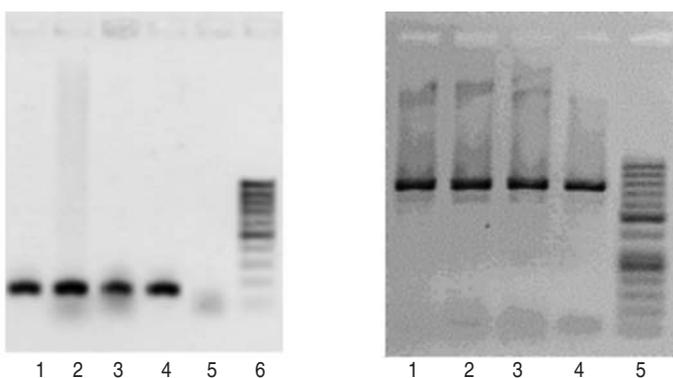


Рис. 1. Электрофореграмма ПЦР-фрагментов: слева – с праймерами *Ва* 813. 1 – СТИ-1, партия 22; 2 – СТИ-1, партия 923; 3 – СТИ-1, партия 289; 4 – СТИ-1, партия 55; 5 – отрицательный контроль; 6 – маркер молекулярных масс 50 бп. Все фрагменты 152 п.о.; справа – с праймерами *rag*. 1 – СТИ-1, партия 22; 2 – СТИ-1, партия 923; 3 – СТИ-1, партия 289; 4 – СТИ-1, партия 55; 5 – маркер молекулярных масс 50 бп. Все фрагменты 747 п.о.

Fig. 1. Electropherogram of PCR fragments: on the left – with primers *Ba* 813. 1 – STI-1, lot 22; 2 – STI-1, lot 923; 3 – STI-1, lot 289; 4 – STI-1, lot 55; 5 – negative control; 6 – molecular weight marker 50 bp. All fragments are 152 bp; on the right – with primers *rag*. 1 – STI-1, lot 22; 2 – STI-1, lot 923; 3 – STI-1, lot 289; 4 – STI-1, lot 55; 5 – molecular weight marker 50 bp. All fragments are 747 bp.

Таблица 5. Величины фрагментов *Vrr*-областей вариантов вакцинного штамма СТИ-1
 Table 5. Sizes of *Vrr*-region fragments of STI-1 vaccine strain variants

Вариант штамма / Strain variant	Размер <i>Vrr</i> -фрагментов / <i>Vrr</i> fragment size						
	<i>VrrA</i>	<i>VrrB1</i>	<i>VrrB2</i>	<i>VrrC1</i>	<i>VrrC2</i>	<i>cg3</i>	<i>pXO1</i>
СТИ-1, партия 22 / STI-1, lot 22	314	229	162	613	604	153	133
СТИ-1, партия 923 / STI-1, lot 923	314	229	162	613	604	153	133
СТИ-1, партия 289 / STI-1, lot 289	314	229	162	613	604	153	133
СТИ-1, партия 55 / STI-1 lot 55	312	229	162	615	601	153	133

Таблица 6. Молекулярное типирование вариантов вакцинного штамма СТИ-1 по 17 локусам
Table 6. Molecular typing of STI-1 vaccine strain variants at 17 loci

Споровая культура / Spore culture	Размер фрагментов / Size of fragments																
	1L	3L	5L	13L	15L	21L	22L	23L	24L	25L	28L	30L	31L	34L	44L	51L	53L
СТИ-1, партия 22	422	519	385	454	607	676	735	693	595	391	493	890	772	425	417	493	236
СТИ-1, партия 923	422	519	385	454	607	676	735	693	595	391	493	890	772	425	417	493	236
СТИ-1, партия 289	422	519	385	454	607	676	735	693	595	391	493	890	772	425	417	493	236
СТИ-1, партия 55	422	519	385	454	607	676	735	693	595	391	493	890	772	425	417	493	236

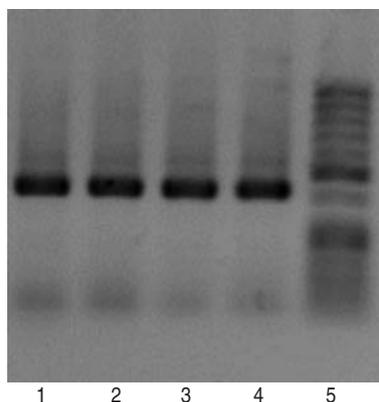


Рис. 2. Электрофореграмма ПЦР-фрагментов с праймерами L 44. 1 – СТИ-1, партия 22; 2 – СТИ-1, партия 923; 3 – СТИ-1, партия 289; 4 – СТИ-1, партия 55. Все фрагменты 417 п.о.
Fig. 2. Electropherogram of PCR fragments with primers L 44. 1 – STI-1, batch 22; 2 – STI-1, batch 923; 3 – STI-1, batch 289; 4 – STI-1, batch 55. All fragments are 417 bp.

является определяющим диагностическим маркером для подгруппы A1.a.

Следующим этапом генетических исследований было молекулярное типирование методом MLVA по 17 локусам по P.Le Fleche [18].

В качестве примера представлены ПЦР-фрагменты, полученные при использовании праймеров Geb Vams 44. На рис. 2 приведены результаты ПЦР с праймерами L 44 [18].

Данные по остальным фрагментам всех четырех изученных штаммов представлены в табл. 6.

Проведенные исследования показали, что все изученные партии вакцинного штамма СТИ-1 являются идентичными при тестировании по схеме P.Le Fleche.

Заключение

Изучение культурально-морфологических, иммунопротективных и молекулярно-генетических характеристик образцов сибиреязвенной вакцины СТИ-1 разных мест приготовления и разного срока хранения показало, что длительность хранения при соблюдении условий хранения незначительно влияет на качество вакцины. Эта стабильность генетических характеристик вакцинного штамма СТИ-1 обуславливается тем, что возбудитель сибирской язвы представляет собой почти идеальную модель прокариотической клональной эволюции с редкой геномной рекомбинацией [22]. При закладке культуры необходимо соблюдать требования ОСО вакцины сибиреязвенной. Для приготовления вакцины СТИ-1 целесообразно использовать эталонные культуры, подвергнутые меньшему количеству пассажей. Вероятно,

именно из-за большого числа пересевов возникла гетерогенность популяционного состава маточной культуры коммерческой вакцины СТИ-1 НПО «Бактериофаг», приготовленной в 1990 г., что обусловило снижение ее иммуногенности и изменения культурально-морфологических свойств.

При проведении селекционной работы по стабилизации клеточного состава рабочих культур, используемых для производства сибиреязвенной вакцины, необходимо проводить молекулярно-генетические исследования, подтверждающие полную идентичность этих культур эталонным образцам.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Financial support

The work was supported by the Sectoral Scientific Program of the Rosпотребнадзор.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

1. Гинсбург НН. Сибиреязвенная вакцина СТИ (к ревизии вопроса о происхождении и сущности вакцинных штаммов). Сб. работ НИИЭГ Красной Армии. М., 1946; Вып. 1:5-85.
2. Гинсбург НН. Живые вакцины (история, элементы теории, практика). М., 1969.
3. Салтыков РА. Стабилизация иммуногенных свойств вакцинных штаммов бактерий. Журнал микробиологии. 1976;8:3-9.
4. Салтыков РА, Бакулов ИА, Гаврилов ВА, Уланова АА, Киваев ВА. Характеристика сибиреязвенного вакцинного штамма СТИ-1, хранившегося 30 лет в виде лиофилизированных спор. Журнал микробиологии. 1976;6:62-65.
5. Чалисов ИА, Тамарин АЛ. Патоморфология и бактериология иммунизаторного процесса при сибиреязвенной вакцине СТИ. Сб. работ НИИЭГ Красной Армии. 1946; В. 1:114-141.
6. Архипова ВР. Разработка эталона живой сибиреязвенной вакцины. В кн.: Антракс (Вопросы иммунологии, клиники и лабораторной диагностики). Под ред. Э.Н.Шляхова. Кишинев: Картя Молдовеняскэ, 1964:121-123.
7. Иванов ВН, Угодчиков ГА. Клеточный цикл микроорганизмов и гетерогенность их популяций. Киев: Наук. думка, 1984.
8. Маринин ЛИ, Дятлов ИА, Шишкова НА, Фирстова ВВ. Сибирская язва вчера и сегодня. М.: Издательство «Династия», 2021.
9. Кожухов ВВ, Строчков ЮИ, Сероглазов ВВ. Контроль генетической полноценности сибиреязвенных эталонных штаммов и вакцинных препаратов методом амплификации ДНК. Материалы научно-практ. конф., посвящ. 100-летию образования противочумной службы России (16–18 сентября 1997 г., Саратов). Т. 1. Саратов, 1997:221.

10. Старицын НА, Померанцев АП, Степанов АВ, Суковатова ЛВ. Плазмиды сибиреязвенного микроба: рестрикционный профиль и возможность рекомбинации. Биотехнология. 1994;6:14-16.
11. Тучков ИВ. Конструирование и внедрение в практику генодиагностической тест-системы для выявления ДНК возбудителя сибирской язвы. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Саратов, 2005.
12. Цыганкова ОИ. Фенотипическая и генетическая вариабельность штаммов сибиреязвенного микроба (теоретические и практические аспекты). Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. Ставрополь, 2007.
13. Микшис НИ, Попова ПЮ, Семакова АП, Кутырев ВВ. Лицензированные сибиреязвенные вакцины и экспериментальные препараты на стадии клинических исследований. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2017;4:112-126. DOI: 10.36233/0372-9311-2017-4-112-126
14. Keim P, Price LB, Klevytska AM, Smith KL, Schupp JM, Okinaka R, et al. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis reveals genetic relationships within *Bacillus anthracis*. J Bacteriol. 2000 May;182(10):2928-36. DOI: 10.1128/JB.182.10.2928-2936.2000
15. Keim P, Kalif A, Schupp J, Hill K, Travis SE, Richmond K, et al. Molecular evolution and diversity in *Bacillus anthracis* as detected by amplified fragment length polymorphism markers. J Bacteriol. 1997 Feb;179(3):818-24. DOI: 10.1128/jb.179.3.818-824.1997
16. Patra G, Sylvestre P, Ramiisse V, Thérasse J, Guesdon JL. Specific oligonucleotide primers for rapid identification of *Bacillus anthracis* strains. Proc. Inter. Workshop on Anthrax. Winchester, England. September 19-21. 1996;45-46.
17. Ramiisse V, Patra G, Garrigue H, Guesdon JL, Mock M. Identification and characterization of *Bacillus anthracis* by multiplex PCR analysis of sequences on plasmids pXO1 and pXO2 and chromosomal DNA. FEMS Microbiol Lett. 1996 Nov 15;145(1):9-16. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1996.tb08548.x
18. Le Flèche P, Hauck Y, Onteniente L, Prieur A, Denoëud F, Ramiisse V, et al. A tandem repeats database for bacterial genomes: application to the genotyping of *Yersinia pestis* and *Bacillus anthracis*. BMC Microbiol. 2001;1:2. DOI: 10.1186/1471-2180-1-2
19. Маринин ЛИ, Дятлов ИА, Мокриевич АН, Шишкова НА, Тимофеев ВС, Миронова РИ, и др. Методы изучения биологических и молекулярно-генетических свойств возбудителя сибирской язвы. Под ред. И.А.Дятлова. М.: Издательство «Династия», 2021.
20. Касина ИВ, Саяпина ЛВ, Анисимова ТИ, Шевцов АН, Лобастов ВС, Бывалов АА, и др. Изучение нового отраслевого стандартного образца вакцины сибиреязвенной живой сухой. Проблемы особо опасных инфекций. 2006;Вып. 91:64-66.
21. Цыганкова ОИ, Фунтикова ТН, Буравцева НР, Еременко ЕИ. Изучение некоторых свойств субкультур сибиреязвенного вакцинного штамма СТИ-1 *in vitro*. В сб.: Иммунология и специфическая профилактика особо опасных инфекций. Матер. Росс. науч. конф. Саратов, 1993:192.
22. Pearson T, Busch JD, Ravel J, Read TD, Rhoton SD, U'Ren JM, et al. Phylogenetic discovery bias in *Bacillus anthracis* using single-nucleotide polymorphisms from whole-genome sequencing. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004 Sep 14;101(37):13536-41. doi: 10.1073/pnas.0403844101
5. Chalisov IA, Tamarin AL. Pathomorphology and bacteriology of the immunizing process with anthrax vaccine STI. Proceedings of the NIEG of the Red Army, 1946;B. 1:114-141. (In Russian).
6. Arkhipova VR. Razrabotka etalona zhivoi sibireyazvennoi vaksiny. V kn.: Antraks (Voprosy immunologii, kliniki i laboratornoi diagnostiki). Pod red. E.N.Shylyakhova. Kishinev: Kartya Moldovenyashke.1964;121-123. (In Russian).
7. Ivanov VN, Ugodchikov GA. Kletochnyi tsikl mikroorganizmov i geterogenost' ikh populyatsii. Kiev: Nauk. dumka, 1984. (In Russian).
8. Marinin LI, Dyatlov IA, Shishkova NA, Firstova VV. Sibirskaya yazva vchera i segodnya. Moscow: «Dinastiya» Publ., 2021. (In Russian).
9. Kozhukhov VV, Ctrochkov Yul, Seroglazov VV. Kontrol' geneticheskoi polnotsennosti sibireyazvennykh etalonnykh shtammov i vaksinnnykh preparatov metodom amplifikatsii DNK. Materialy nauchno-prakt. konf., posvyashch. 100-letiyu obrazovaniya protivochumnoi sluzhby Rossii (16–18 sentyabrya 1997 g., Saratov). T. 1. Saratov, 1997;221. (In Russian).
10. Staritsyn NA, Pomerantsev AP, Stepanov AV, Sukovatova LV. Plazmidy sibireyazvennogo mикроба: restriksionnyi profil' i vozmozhnost' rekombinatsii. Biotekhnologiya. 1994;6:14-16. (In Russian).
11. Tuchkov IV. Konstruirovaniye i vnedreniye v praktiku genodiagnosticheskoi test-sistemy dlya vyyavleniya DNK vobzuditelya sibirskoi yazvy. Avtoref. diss. ... kand. med. nauk. Saratov, 2005. (In Russian).
12. Tsygankova OI. Fenotipicheskaya i geneticheskaya variabel'nost' shtammov sibireyazvennogo mикроба (teoreticheskie i prakticheskie aspekty). Avtoref. diss. ... dokt. med. nauk. Stavropol', 2007. (In Russian).
13. Mikshis NI, Popova PYu, Semakova AP, Kutyrev VV. Licensed anthrax vaccines and experimental preparations at the stage of clinical trials. Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 2017;4:112-126. DOI: 10.36233/0372-9311-2017-4-112-126 (In Russian).
14. Keim P, Price LB, Klevytska AM, Smith KL, Schupp JM, Okinaka R, et al. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis reveals genetic relationships within *Bacillus anthracis*. J Bacteriol. 2000 May;182(10):2928-36. DOI: 10.1128/JB.182.10.2928-2936.2000
15. Keim P, Kalif A, Schupp J, Hill K, Travis SE, Richmond K, et al. Molecular evolution and diversity in *Bacillus anthracis* as detected by amplified fragment length polymorphism markers. J Bacteriol. 1997 Feb;179(3):818-24. DOI: 10.1128/jb.179.3.818-824.1997
16. Patra G, Sylvestre P, Ramiisse V, Thérasse J, Guesdon JL. Specific oligonucleotide primers for rapid identification of *Bacillus anthracis* strains. Proc. Inter. Workshop on Anthrax. Winchester, England. September 19-21. 1996;45-46.
17. Ramiisse V, Patra G, Garrigue H, Guesdon JL, Mock M. Identification and characterization of *Bacillus anthracis* by multiplex PCR analysis of sequences on plasmids pXO1 and pXO2 and chromosomal DNA. FEMS Microbiol Lett. 1996 Nov 15;145(1):9-16. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1996.tb08548.x
18. Le Flèche P, Hauck Y, Onteniente L, Prieur A, Denoëud F, Ramiisse V, et al. A tandem repeats database for bacterial genomes: application to the genotyping of *Yersinia pestis* and *Bacillus anthracis*. BMC Microbiol. 2001;1:2. DOI: 10.1186/1471-2180-1-2
19. Marinin LI, Dyatlov IA, Mokrievich AN, Shishkova NA, Timofeev VS, Mironova RI i dr. Metody izucheniya biologicheskikh i molekulyarno-geneticheskikh svoystv vobzuditelya sibirskoi yazvy. Pod red. I.A.Dyatlova. Moscow: Izdatel'stvo «Dinastiya», 2021. (In Russian).
20. Kasina IV, Sayapina LV, Petukhov VG, Anisimova TI, Shevtsov AN, Byvalov AA, et al. Elaboration and studying of a novel branch-wise standard specimen of dry live anthrax vaccine. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2006;1(91):64-66. (In Russian).
21. Tsygankova OI, Funtikova TN, Buravtseva NP, Eremenko EI. Izucheniye nekotorykh svoystv subkul'tur sibireyazvennogo vaksinnnogo shtamma СТИ-1 *in vitro*. V sb.: Immunologiya i spetsificheskaya profilaktika osobo opasnykh infektsii. Mater. Ross. nauch. konf. Saratov, 1993;192. (In Russian).

References

1. Ginsburg NN. Sibireyazvennaya vaksina STI (K revizii voprosa o proiskhozhdenii i sushchnosti vaksinnnykh shtammov). Sb. rabot NIEG Krasnoi Armii. Moscow, 1946;Vyp. 1:5-85. (In Russian).
2. Ginsburg NN. Zhivye vaksiny (Istoriya, elementy teorii, praktika). Moscow, 1969. (In Russian).
3. Saltykov RA. Stabilization of the immunogenic properties of vaccinal strains of bacteria. Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol. 1976 Aug;(8):3-9. (In Russian).
4. Saltykov RA, Bakulov IA, Gavrilov VA, Ulanova AA, Kivaev VA. Characteristics of the anthrax vaccinal strain STI-1 preserved for 30 years in the form of lyophilized spores. Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol. 1976 Jun;(6):62-5. (In Russian).

22. Pearson T, Busch JD, Ravel J, Read TD, Rhoton SD, U'Ren JM, et al. Phylogenetic discovery bias in *Bacillus anthracis* using single-nucleotide polymorphisms from whole-genome sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Sep 14;101(37):13536-41. DOI: 10.1073/pnas.0403844101

Информация о соавторах:

Шишкова Нина Андреевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологии сибирской язвы отдела особо опасных инфекций ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Мокриевич Александр Николаевич, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник отдела особо опасных инфекций ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Дятлов Иван Алексеевич, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Титарева Галина Михайловна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологии сибирской язвы отдела особо опасных инфекций ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Information about co-authors:

Nina A. Shishkova, PhD in Biological Sciences, Leading Researcher Laboratory of Anthrax Microbiology Department of Particularly Dangerous Infections, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Alexander N. Mokrievich, MD, PhD, DSc, Head of the Department of Highly Dangerous Infections, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Ivan A. Dyatlov, Academician of RAS, MD, PhD, DSc, Professor, Director of the State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Galina M. Titareva, MD, PhD, Senior Researcher of the Laboratory of microbiology of anthrax, Department of Highly Dangerous Infections, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

НОВОСТИ НАУКИ

Бактерии полости рта могут быть связаны с изменениями в работе мозга по мере старения людей

Генотип аполипопротеина и дефицит оксида азота являются факторами риска возрастного снижения когнитивных функций. Микробиом полости рта играет важную роль в поддержании биодоступности NO при старении.

У 60 пациентов с легкими когнитивными нарушениями высокая относительная распространенность *Neisseria* была связана с лучшими показателями когнитивных функций, касающихся исполнительной функции и зрительного внимания, а в здоровой группе *Neisseria* коррелировала с рабочей памятью.

Высокая распространенность *Haemophilus* и *Haemophilus parainfluenzae*, которые встречались вместе с *Neisseria*, коррелировала с лучшими показателями исполнительной функции в группе с легкими когнитивными нарушениями. Не было никаких различий в пероральных концентрациях нитрата или нитрита между группами с легкими когнитивными нарушениями и здоровыми. Линейный дискриминантный анализ определил *Porphyromonas* как предиктор легких когнитивных нарушений, а *Prevotella intermedia* как предиктор статуса носительства APOE4. Основные выводы: большая распространенность орального *P. intermedia* связана с повышенным генетическим риском деменции (генотип APOE4) у лиц с легкими когнитивными нарушениями до постановки диагноза деменции, и что вмешательства, способствующие оральному *Neisseria-Haemophilus* и подавляющие модули, в которых доминирует *Prevotella*, имеют потенциал для задержки когнитивного снижения.



L'Heureux JE, Corbett A, Ballard C, Vauzour D, Creese B, Winyard PG, et al. Oral microbiome and nitric oxide biomarkers in older people with mild cognitive impairment and APOE4 genotype. PNAS Nexus. 2025 Jan 28;4(1):pgae543. DOI: 10.1093/pnasnexus/pgae543