

**МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИГЕННОЙ СТРУКТУРЫ *B. ANTRACIS* И *B.CEREUS***

**Богданова Альфия Рушановна, магистрант 3 курса**

**ФВМиБ;alfiyabgdanova94@mail.ru**

**Карашель Григорий Константинович, магистрант 2 курса ФВМиБ;**

**gregkarashel@yandex.ru**

**Научный руководитель - Мерчина Светлана Васильевна, кандидат**

**биологических наук, доцент, sv2309@yandex.ru**

**ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ**

*Ключевые слова: антигенная структура, преципитирующие сыворотки, противосибиреязвенные сыворотки, бактериальные клетки, питательные среды.*

Описаны результаты изучения антигенной структуры *Bacillus anthracis* и *Bacillus cereus* различными методами и активность комплекса антиген-антитело.

Широкое применение при изучении антигенной структуры бактерий, в частности, *Bacillus anthracis*, и определении серологического родства с представлениями близкородственных видов нашла реакция диффузионной преципитации (РДП). РДП является одним из специфических методов иммунохимического анализа сложных антигенных комплексов, позволяя выявлять наличие как отдельных антигенов, так и родственных антигенных структур.

Если при реакции преципитации в жидкой среде все линии сливаются в едином кольце, то при диффузионной преципитации из-за различной скорости диффузии строго соответствующих пар антиген-антитело линии образуются в соответствии с молекулярными массами и количествами исследуемых антигенов. РДП в геле неоднократно применялась для дифференциации возбудителя сибирской язвы от близкородственных бацилл [1].

Для оценки общности сибиреязвенных антигенов и антигенов, выделенных из штаммов *Bacillus cereus*, использовали коммерческие сыворотки:

преципитирующей и противосибиреязвенной, а также с сибиреязвенный глобулин [2].

РДП ставили по методу двойной диффузии в агаровом геле по Оухтеолони. Основные закономерности этой реакции заключаются в следующем:

- один антиген даёт одну полосу преципитации,
- если в реакции присутствует несколько антигенов, они реагируют независимо друг от друга,

- количество присутствующих зон преципитации соответствует минимуму присутствующих в системе комплексов антиген-антитело.

Первоначально необходимо было определить способ наиболее эффективного выделения антигенного комплекса для использования этого метода в проведении наших дальнейших исследований. В связи с этим апробированы различные способы извлечения антигенов из вегетативных клеток *Bacillus antracis* к ультивируемых в жидкой среде. По нашим данным, выход бактериальной массы на ней был значительно больше, чем на МПБ.

Далее необходимо было получить антигенные препараты. Для этого использовали две методики:

- разрушением SDS;
- прогреванием при 100°C в водяной бане в течение 20 минут [3,4].

По первой методике отмытые в 0,5 л питательной среды трехкратным центрифугированием 5000 об/мин - 30 мин. в физиологическом растворе бактериальные клетки соединяли с додецилсульфат натрия (808) в конечной концентрации 0,5% раствора и выдерживали в термостате 18 часов. Полученный субстрат центрифугировали при 7000 g. Осадок являлся антигеном, и его разводили в 5 мл физраствора. Для остаточной инактивации культуры добавляли раствор мертиолята в концентрации 0,001%. Контроль стерильности проводили высевом на МПА. В результате получен антиген штамма *Bacillus cereus* № 8035, обработанный SDS, стерильный, первоначальной концентрации 0,5 млрд./мл, возможный для использования в РДП. Таким же способом получен антигенштамма СТИ *Bacillus antracis*.

По второй методике - на питательную среду 0,5 л вводили культуру штамма *Bacillus anthracis* СТИ, затем культивировали 18 часов при температуре 37°C. Полученную бактериальную массу трехкратно центрифугировали при 5000 об/мин 20 минут и трехкратно рессуспензировали в физрастворе. Концентрацию бактериальной массы доводили по стандарту мутности до величины 5,0 млрд./мл. Суспензию бактерий подвергали термической обработке на водяной бане при 100°C 20 минут. Контроль стерильности проводили высевом на МПА. В результате получен антиген, обработанный температурой 100°C, стерильный, концентрации первоначальной 5,0 млрд./мл, возможный для использования в РДП [5,6].

В результате проведенных исследований установлено, что наиболее активным оказался антигенный комплекс, выделенный из клеток *Bacillus anthracis* с помощью SDS разрушения. С преципитирующей сывороткой этот комплекс образовывал 4 линии преципитации, с противосибирязвенной - 3, с глобулином - 6.

Антиген, полученный из клеток *Bacillus anthracis* кипячением, образовывал 1 линию преципитации с преципитирующей сывороткой и не реагировал с глобулином и противосибирязвенной сывороткой.

Установлено, что штамм *Bacillus cereus* содержат комплексы, родственные антигенам возбудителя сибирской язвы.

### **Библиографический список**

1. Мерчина С.В. Обоснование необходимости в разработке технологических параметров, исключаящих контаминацию пищевых продуктов *Bacillus cereus* / С.В.Мерчина//Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Ульяновск, 2003.-21 с.

2. Мерчина С.В. Изучение антигенной структуры *B. anthracis* и *B.cereus*/ С.В. Мерчина, В.А. Русалеев, Т.А. Елантьева //Сб. «Материалы Всероссийской научно-производственной конференции "Инновационные технологии в аграрном образовании, науке и АПК России" 60-летию академии посвящается». УГСХА, 2003.- С.249-250.

3. Мерчина С.В. Изучение сроков жизнеспособности *B.cereus* в пищевых добавках (специи), используемых при производстве колбас/ С.В. Мерчина, В.А. Русалеев, Р.Р. Бадаев, Д.А Васильев//УГСХА, 2002. № 8.- С.10-11.
4. Мерчина С.В. Изучение действия соли нитрита натрия на рост *B.cereus*/ С.В. Мерчина, В.А. Русалеев, Д.А Васильев//УГСХА, 2002. № 8.- С.11-12.
5. Мерчина С.В. Классификация и таксономия двух видов- *Bac.anthraxis* и *Bac.cereus* // С.В. Мерчина, В.А. Русалеев, Д.А Васильев //УГСХА, 2002. № 8.- С.12-15.
6. Мерчина С.В.Выбор оптимального метода вегетации спор бактерии *B.cereus* / С.В. Мерчина, В.А. Русалеев, Р.Р. Бадаев, Д.А Васильев// УГСХА, 2002. № 8.- С.7-9.

## **STUDY OF THE ANTIGENIC STRUCTURE OF *BACILLUS ANTHRACIS* AND *BACILLUS CEREUS***

**A.R. Bogdanova, G.K. Karashel, S. V. Merchina**

**Key words:** *antigenic structure, precipitating sera, anti-ulcer sera, bacterial cells, nutrient media.*

The results of studying the antigenic structure of *Bacillus anthracis* and *Bacillus cereus* by various methods and the activity of the antigen-antibody complex are described.