

1. ПРОБЛЕМИ БІОБЕЗПЕКИ ТА БІОЗАХИСТУ. ЕМЕРДЖЕНТНІ ІНФЕКЦІЇ

УДК 619:616.98:579.852.11

DOI 10.36016/VM-2019-105-1

ПРО ПОХОДЖЕННЯ ТА ЕВОЛЮЦІЮ *BACILLUS ANTHRACIS*

Білоконов І. І.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: admin@vet.kharkov.ua

У статті наведені результати моніторингових досліджень за матеріалами сайтів Promed-mail, монографій вітчизняних і закордонних авторів про походження та еволюцію *B. anthracis*, у результаті якої мікроб набув вірулентність для людей і тварин шляхом трансформації на першому етапі у групу *B. cereus* ряду близькоспоріднених видів бацил, від величезної кількості спороутворюючих мікроорганізмів, що мешкають у ґрунті. Далі відбулося відділення *B. anthracis* від інших видів *B. cereus* у результаті придбання факторів вірулентності у вигляді плазмід рХО1 і рХО2, детермінуючих синтез основних властивостей вірулентності — токсину та капсули

Ключові слова: *B. anthracis*, *B. cereus*, геном, плазміди, еволюція, сибірка

Сибірка (сибирская язва — рус., anthrax — англ., milzbrand — нім., febris carbunculosa — лат.) — особливо небезпечна інфекційна хвороба домашніх і диких тварин, а також людини, що протікає з явищами септицемії або утворенням карбункулів. Зараз сибірка зустрічається в усіх країнах світу як серед тварин, так і серед людей. Не спостерігається тільки на Крайній Півночі Американського континенту, в Антарктиді і нечисленних острівних територіях [1, 3].

За останні роки в ряді країн світу намітилася тенденція до зниження захворюваності на сибірку людей і тварин, проте, ця особливо небезпечна інфекція набула трансконтинентального характеру, у зв'язку з чим необхідний постійний нагляд і аналіз, а в разі необхідності вжиття термінових заходів. Незважаючи на проведені в багатьох країнах профілактичні заходи проти сибірки, у жодній країні світу ця хвороба не ліквідована [1].

Про появу на землі збудника сибірки і його еволюцію, а разом з тим і сибіркової інфекції існують різні тлумачення. Ряд авторів вважають, що збудник сибірки виник із сапрофітного спороутворюючого мікроба, можливо, з *Bac. cereus*, як найбільш близького за багатьма біологічними ознаками до *Bac. anthracis* [1].

Процес трансформації *Bac. cereus* у *Bac. anthracis* стався у стародавні часи, напевно, коли з'явилися траводітні тварини та їх зіткнення на пасовищі зі спороутворюючими ґрунтовими сапрофітами. Ці мікроби, проникаючи в організм тварин через травми слизових оболонок, адаптувалися шляхом мутації до умов життя в макроорганізмі, де вони набули нові властивості у вигляді патогенності, зберігши при цьому здатність до спорогенезу і, тим самим, високу життєздатність і стійкість у зовнішньому середовищі [1].

На думку І. А. Бакулова [1] еволюційний процес *Bac. anthracis* і самої хвороби відбувається і в даний час, можливо, і в зворотному напрямку, про що свідчать численні спостереження, які підтверджують циркуляцію безкапсульних авірулентних форм в організмі тварин, а також у зовнішньому середовищі.

Новий етап еволюції *Bac. anthracis* почався у зв'язку з проведенням масових вакцинацій тварин проти сибірки живими споровими вакцинами. В умовах вакцинації та при наявності активного імунітету бацила антракса позбавляється здатності заразити тварину і зробити величезне потомство, а потім потрапити в зовнішнє середовище і перейти у спорову форму. Вегетація збудника сибірки в інших умовах зовнішнього середовища, на відміну від розмноження в живому організмі, веде до втрати вірулентних властивостей, так як ці властивості стають не потрібними для проживання у ґрунті [1].

Не виключаються й інші механізми еволюції *Bac. anthracis* у період перебування її в ґрунті, особливо у старих скотомогильниках, де в літню теплу пору збудник сибірки може вегетувати і піддаватися дії бактеріофагів у вигляді генетичної трансдукції, а також трансформації або кон'югації.

Вірулентність збудника сибірки визначається в основному капсулою, наявністю якої детермінується плазмідом рХО2. Втрата даної плазмиди веде до втрати вірулентності. За ступенем вірулентності, пов'язаної з наявністю або відсутністю капсули, розрізняють 4 типи збудників:

1. Вірулентний штам *Bac. anthracis* (cap^x токс^x), що містить плазмиди рХО1 і рХО2, патогенний для людини і тварин;
2. Вакцинний штам *Bac. anthracis* (кап-, токс^x) включає плазмиду рХО1 при відсутності плазмиди рХО2;
3. Авірулентний штам *Bac. anthracis* (cap^x, токс-), що містить плазмиду рХО2, при відсутності плазмиди рХО1 патогенний для лабораторних тварин.
4. Непатогенний штам *Bac. anthracis* (кап-, токс-) — відсутні обидві плазмиди, втрачена вірулентність.

Відомо, що рід *Bacillus* об'єднує понад 100 аеробних і факультативно-анаеробних спороутворюючих видів бацил. *B. anthracis* є єдиним облігатним патогеном для тварин і людини у групі близькоспоріднених бацил, іменованій *B. cereus sensu lato* [7, 8].

До цієї групи також віднесені *B. cereus sensu stricto*: *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. thuringiensis* і *B. weihenstephanensis*. *B. cereus* є ґрунтовим сапрофітом, але окремі його штами здатні викликати харчові токсикози з ознаками діареї. *B. mycoides* і *B. pseudomycoides* — непатогенні сапрофіти [11].

Багато штамів *B. thuringiensis* містять параспорові кристалічні білки, токсичні для комах і деяких видів безхребетних [9, 10].

B. weihenstephanensis мешкає у ґрунті, адаптований до низьких температур навколишнього середовища [12].

Деякі вчені стверджують, що всі види бацил, які входять до групи *B. cereus* s.l., становлять один вид з незначними генетичними відмінностями [13].

На основі молекулярно-генетичних досліджень встановлено, що види, які входять до групи *B. cereus*, складають три клади [14, 16, 17].

До першого клади віднесені всі вивчені штами *B. anthracis* і частина штамів *B. cereus*. Інші штами *B. cereus* і більшість штамів *B. thuringiensis* включені у другий клад. Штами *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. weihenstephanensis* складають 3-й клад. Ці штами позначені як кластери С, Т і W [18].

В останні роки в ряді лабораторій були проведені молекулярно-генетичні дослідження, у результаті яких отримані нові дані, які поглиблюють раніше висловлені припущення про походження і еволюцію *B. anthracis* [2, 4, 5, 6].

Результати проведеного аналізу свідчать про те, що еволюція збудника сибірки призвела до виникнення штамів бацил з аналогічними для *B. anthracis* плазмідами вірулентності (рХО1 і рХО2), які при цьому зберегли певні властивості *B. cereus* та здатні спричиняти антраксоподібні захворювання людини і деяких видів тварин. Вірулентний потенціал бацил даної групи, генетично близьких до *B. anthracis*, є досить високим.

Еволюція *B. anthracis*, у результаті якої мікроб набув вірулентність для тварин і людей, на думку ряду вчених включає два етапи [7, 20].

На першому етапі відбулася трансформація у групу *B. cereus* близькоспоріднених видів бацил від величезної кількості спороутворюючих бактерій, що мешкають у ґрунті. На другому етапі *B. anthracis* відокремився від інших видів групи *B. cereus* у зв'язку з придбанням найважливіших факторів вірулентності — плазмід рХО1 і рХО2, що детермінують синтез токсину та капсули.

Останнім часом все частіше стали виявляти так звані «антраксоподібні» захворювання тварин і людини, які викликані вірулентними штамми *B. cereus* і, рідше, *B. thuringiensis* [21, 22].

У 1994 р. у штаті Луїзіана (США) від зварювальника з ознаками важкої пневмонії, був виділений штам *B. cereus* G9241. У 2003 р. з різницею у три тижні у двох різних місцях штату Техас сталося два смертельних випадки захворювання робітників, пов'язаних з обробкою металу,

які клінічно нагадували інгаляційну форму сибірки. При лабораторних дослідженнях у першому випадку з крові був ізольований штам *B. cereus* 03 BB102. Зі зразків із робочого місця було виділено штам *B. cereus* 03 BB108. З крові другого померлого робочого виділено штам *B. cereus* 03 BB87, який майже не відрізнявся від штаму *B. cereus* G9241, ізольованого в 1994 р. у Луїзіані, за винятком ступеня експресії генів капсули. Штами *B. cereus* 03 BB102 і *B. cereus* 03 BB108 були ідентичні за багатьма ознаками, за винятком генетичного профілю плазмиди рХО1 і морфології колоній. Ці штами філогенетично були більш схожі з *B. anthracis*, ніж з *B. cereus* 03 BB87, G9241, *B. thuringiensis* 97–27, *B. cereus* E33 L і двома токсигенними ізолятами *B. cereus* D17 і 3 A. Штами *B. cereus* 03 BB102 і 03 BB108 віднесені до сіквенс-типу 11, *B. cereus* 03 BB87 і *B. cereus* G9241 — до сіквенс-типу 78. Усі штами віднесені до кладу 1. Епідеміологічного зв'язку між випадками захворювання в Луїзіані та Техасі не виявлено [23, 24].

При секвенуванні штаму *B. cereus* G9241 виявлено дві плазмиди вірулентності близькі до рХО1 і рХО2 *B. anthracis*. При цьому, плазміда рВСХА кодувала раg А1-гомолог протективного антигену *B. anthracis* і hasACB, який детермінував синтез капсули з гіалуронової кислоти. Плазміда рBC218 кодувала у ps-n-екзополісахарид *B. cereus*, що утворює другу капсулу. Напевно ці дві капсули грали істотну роль у патогенезі при антраксоподібних захворюваннях людей, що були викликані *B. cereus* G9241 [25].

За даними Wilson et al. [26] штам *B. cereus* G9241 був авірулентним для кроликів при підшкірному зараженні і у 100 разів менш вірулентним, ніж референтний штам *B. anthracis* Ames при аерозольному зараженні. Для мишей декількох ліній LD₅₀ даного штаму була значно вище, ніж для *B. anthracis* Ames, але мало чим відрізнялася від безкапсульного токсигенного вакцинного штаму *B. anthracis* Sterne.

У Західній Африці (Камерун) у 2001–2002 рр. у національному парку Тан від 6 шимпанзе та горил, а також від 6 диких шимпанзе, що раптово загинули з ознаками сибірки, були ізольовані штами *B. cereus*, що містять дві плазмиди патогенності *B. anthracis* рХО1 і рХО2. [28, 29, 30, 31].

Один із тих штамів, ізольований від шимпанзе «Лео» (С1), був підданий повному секвенуванню генома [27].

Однак на відміну від класичних штамів *B. anthracis*, штам С1 *B. cereus* виявився рухомим, у нього ідентифіковані чотири реплікони на хромосомі та три плазмиди. При порівняльному геномному аналізі встановлено, що його хромосома нагадує хромосому інших видів групи *B. cereus*, але не *B. anthracis*. Водночас, виявлені в ньому дві плазмиди були ідентичні плазмідам вірулентності рХО1 і рХО2 *B. anthracis*. Функція вперше виявленої третьої плазмиди залишається поки не відомою. При аналізі геномних локусів, що кодують основні функції, підтвердили більш тісну близькість даного штаму зі штамами *B. thuringiensis* 97–25 і *B. cereus* E33 L, ніж зі штамами *B. anthracis*. Для порівняльного аналізу ці два штами були обрані у зв'язку з тим, що вони є вірулентними і тісно пов'язані з *B. anthracis*. Слід зауважити, що штам *B. thuringiensis* 97–27 був ізольований від людини з важким некрозом тканини, а *B. cereus* E. 33 L від зебри, ймовірно загиблої від сибірки. Штам С1 *B. cereus*, що викликає захворювання та нагадує сибірку за генетичною структурою, не може бути віднесений до штамів *B. anthracis*. Автори припустили, що цей штам еволюціонував зі штаму *B. cereus* і придбав нові властивості, характерні для *B. anthracis*, зберігши при цьому риси *B. cereus*. У зв'язку з цим, запропоновано іменувати цей штам, як *B. cereus* var. *anthracis* [24].

Подальші дослідження показали, що, так звані «дивні сибіркові штами» у Камеруні стали причиною спалахів смертельної хвороби не тільки мавп, але і великої рогатої худоби, від якої був виділений штам JF3964. За висновком Pilo зі співавт. [25] цей штам філогенетично проявляв себе як *Bac. cereus*, для якого була характерна резистентність до специфічного для *B. anthracis* v-фагу та пеніциліну, але на відміну від *B. cereus* не виявляв гемолітичної активності. У цього штаму були відсутні хромосомні маркери Sap і Ba S13, використовувані при ідентифікації *B. anthracis*, але він містив гени вірулентності властиві плазмідам збудника сибірки рХО1 і рХО2. Автори показали, що штами, ізольовані в Західній і Центральній Африці від великої рогатої худоби, належать до філогенетичної групи АВ, раніше вони не виявлялися поза цією зоною. Було зроблено висновок, що в цьому регіоні присутній субтип *B. anthracis*, який належить до нового кладу (Д). Даний субтип має спорідненість з *B. cereus*, що викликає у великої рогатої худоби і приматів симптоми антраксу.

Плазмиди вірулентності рХО1 і рХО2 *B. anthracis* виявлені і у інших видів роду *Bacillus*, що не входять до групи *B. cereus*. Капсульний оперон плазмиди рХО2 *B. anthracis* був виявлений у

складі великих плазмід у двох штамів бацил, ізольованих із зовнішнього середовища. Один з цих штамів не належить до жодного з відомих видів бацил, за винятком *B. luciferensis*, другий був ідентифікований як *B. arculat* [26].

Виявлення вірулентних для людини і тварин штамів бацил, у яких фенотип відрізнявся за рядом ознак від класичних штамів *B. anthracis*, підтверджує можливе еволюційне походження. Відомі також думки, про те, що *B. anthracis* має вкрай обмежені природні можливості обміну генетичним матеріалом з іншими бацилами, у тому числі і близькородними видами групи *B. cereus*. Це підтверджується тим, що *B. anthracis* у споровій формі може протягом багатьох років перебувати у ґрунті у спочиваючому стані, при якому неможливі генетичні рекомбінації. Однак існує думка, заснована на експериментальних даних, що спори *B. anthracis* можуть проростати в ризосфері певних трав'янистих рослин у вегетативні форми, в яких можливий обмін плазмідями [27].

Природний генетичний обмін у вигляді горизонтального переносу генів плазмід вірулентності рХО1 і рХО2 можливий в період інфекційного захворювання. Але такий обмін не призводить до істотних генетичних змін навіть в середині виду [28, 29].

Відомо, що найбільш відрізняються між собою штами *B. anthracis* мають понад 99,99 % ідентичності нуклеотидної послідовності [32].

Ряд дослідників [29,32] відзначають, що в даний час не є достатньо експериментальних даних, які підтверджують можливість природного генетичного обміну плазмідями між *B. anthracis* та іншими бацилами в організмі людини і тварин, хоча в лабораторних умовах здійснення перенесення плазмід між штамми в середині групи *B. cereus* не становить серйозних труднощів [26, 32].

Передбачається, що кон'югація — найбільш реальний спосіб перенесення плазмід у групі *B. cereus* [33].

Вірулентний потенціал бацил з групи *B. cereus*, обумовлений отриманням плазмід рХО1 і рХО2 генетично близьких до *B. anthracis*, дуже високий [34].

У минулому — 20–30 тисяч років тому *B. anthracis* здійснив таку можливість і поширився по всьому світу [35].

За даними Нап зі співавт. [36] *B. cereus* і *B. thuringiensis* мають повний набір генів для кодування токсину та капсули — факторів вірулентності. В еволюції вірулентних штамів бацил з групи *B. cereus*, що спричиняють антраксоподібні захворювання, залишається багато не відомого. Необхідні подальші дослідження вірулентних штамів збудників антраксоподібних захворювань, щоб встановити час, місце і причини їх появи, звернувши особливу увагу на можливість їх розмноження та поширення в навколишньому середовищі, тим більше, не можна виключати і того, що ці штами могли бути генетично створені в лабораторних умовах для певних цілей.

Для діагностики сибірки протягом багатьох десятиліть успішно застосовували загальновідомі мікробіологічні методи, такі як мікроскопія мазків, ідентифікація збудника за культурально-біохімічними властивостями, серологічні реакції та біопроби на лабораторних тваринах. Поставити правильний діагноз на сибірку досить складно у зв'язку з можливим отриманням неоднозначних результатів. У цьому випадку найбільш надійним методом є молекулярно-генетичний [4, 5, 6, 36], в основі якого лежить виявлення двох плазмід вірулентності — рХО1 і рХО2. Однак необхідно враховувати можливе виявлення штамів *B. anthracis* з елементациєю однієї або двох плазмід. Такі штами іноді виділяються з навколишнього середовища. При діагностиці інфекційних захворювань з клінічними і патологоанатомічними ознаками сибірки необхідно враховувати можливе виявлення незвичайних штамів *B. anthracis* або інших бацил. Тому правильний діагноз на сибірку може бути поставлений тільки при комплексному підході, що включає бактеріологічні, серологічні дослідження, біологічну пробу на лабораторних тваринах з обов'язковим застосуванням молекулярно-генетичних методів.

Висновки та перспективи подальших досліджень: 1. Еволюція *B. anthracis*, у результаті якої мікроб набув вірулентність для людей і тварин, більш ймовірно, включає два етапи. На першому етапі відбулася трансформація у групу *B. cereus* ряду близькоспоріднених видів бацил від величезної кількості спороутворюючих мікроорганізмів, що мешкають у ґрунті. На другому етапі *B. anthracis* відокремився від інших видів групи *B. cereus*, у зв'язку з придбанням найважливіших факторів вірулентності-плазмід рХО1 і рХО2, що детермінують синтез токсину та

капсули і, можливо, до виникнення штамів бацил з аналогічними для *B. anthracis* плазмідами вірулентності, але зберегли певні властивості *B. cereus*, що спричиняють антраксоподібні захворювання людини і деяких видів тварин. Вірулентний потенціал бацил даної групи, генетично близьких до *B. anthracis*, є досить високим. В еволюції *B. anthracis* і вірулентних штамів, що спричиняють антраксоподібні захворювання людей і деяких видів тварин, багато залишається невідомого. Необхідні подальші дослідження в цьому напрямку.

2. При діагностиці інфекційних захворювань з клінічними і патологоанатомічними ознаками збудника сибірки необхідно враховувати можливе виявлення незвичайних штамів *B. anthracis* або інших бацил. Правильний діагноз на сибірку може бути поставлений тільки при комплексному підході, включаючи бактеріологічні, серологічні дослідження і біологічну пробу на лабораторних тваринах з обов'язковим застосуванням молекулярно — генетичних методів.

Список літератури

1. Бакулов И. А., Гаврилов В. А., Селиверстов В. В. Сибирская язва (Антракс). Владимир : Посад, 2001. 278 с.
2. Білоїван О. В., Стегній Б. Т., Герілович А. П. [та ін.]. Розробка позитивного ПЛР-контролю для виявлення генетичного матеріалу *B. anthracis* // *Вет. медицина* : міжвід. тематич. наук. зб. 2018. Вип. 104. С. 305–309.
3. Бусол В., Постой В., Блажко А. Епізоотологічний моніторинг: сибірка. *Вет. медицина України*. 2002. № 3. С. 12–14.
4. Лиманская О. Ю., Лиманский А. П. Маркеры для видоспецифической детекции бацилл группы *Bacillus cereus*. *Журн. микробиол., эпидемиол., иммунобиол.* 2008. № 3. С. 20–26.
5. Лиманская О. Ю., Муртазаева Л. А., Кли С., Лиманский А. П. Детекция возбудителя сибирской язвы с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени. *Biotechnologia Acta*. 2012. Т. 5, № 5. С. 65–71.
6. Лиманская О. Ю., Муртазаева Л. О., Лиманский О. П. Видоспецифічна детекція збудника сибірки. *Biotechnologia Acta*. 2012. Т. 5, № 1. С. 92–99.
7. Yu G. X. Pathogenic *Bacillus anthracis* in the progressive gene losses and gains in adaptive evolution. *BMC Bioinform.* 2009; 10 (suppl. 1): S3.
8. Turnbull P. Introduction: anthrax history, disease and ecology. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2002; 271: 1–19.
9. Berry C., O'Neil S., Ben-Dov E. [et al.]. Complete sequence and organization of pBtoxis, the toxin-coding plasmid of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002; 68(10): 5082–5095.
10. Roh J., Choi J., Li M. [et al.]. *Bacillus thuringiensis* as a specific, safe, and effective tool for insect pest control. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2007; 17(4): 547–559.
11. Nakamura L., Jackson M. Clarification of the taxonomy of *Bacillus mycoides*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1995; 45: 46–49.
12. Lechner S., Mayr R., Francis K., [et al.]. *Bacillus weihenstephanensis* sp. nov. is a new psychrotolerant species of the *Bacillus cereus* group. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1998; 4: 1373–1382.
13. Daffonchio D., Cherif A., Brusetti L. [et al.]. Nature of polymorphisms in 16 S–23 S rRNA gene intergenic transcribed spacers fingerprinting of *Bacillus* and related genera. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003; 69: 5128–5137.
14. Priest F., Barker M., Baillie L. [et al.]. Population structure and evolution of the *Bacillus cereus* group. *J. Bacteriol.* 2004; 186: 7959–7970.
15. Rasko D., Worsham P., Abshire T. [et al.]. Microbial forensic applications of comparative genome analysis: Identification of *Bacillus anthracis* genetic markers in the Amerithrax investigation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2011; 108(12): 5027–5032. <https://doi.org/10.1073/pnas.10166571108>
16. Helgason E., Okstad O., Caugant D. [et al.]. *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus thuringiensis* — one species on the basis of genetic evidence. *Appl. Environ. Microbiol.* 2000; 66: 2627–2630.
17. Ko K., Kim J. W., Kim J. M. [et al.]. Population structure of the *Bacillus cereus* group as determined by sequence analysis of six housekeeping genes and the *plcR* gene. *Infect. and Immun.* 2004; 72: 5253–5261.
18. Sorokin A., Candelon B., Guilloux K. [et al.]. Multiple-locus sequence typing analysis of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* reveals separate clustering and a distinct population structure of psychrotrophic strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 2006; 72(2): 1569–1578.
19. Didelot X., Barker M., Falush D., Priest F. Evolution of pathogenicity in the *Bacillus cereus* group. *Syst. Appl. Microbiol.* 2009; 32(2): 81–90.
20. Pilo P., Frey J. *Bacillus anthracis*: Molecular taxonomy, population genetics, phylogeny and patho-evolution (Review) *Infect. Genet. Evol.* 2011; 11: 1218–1224.
21. Hernandez E., Ramisse F., Ducoureaux J. [et al.]. *Bacillus thuringiensis* subsp. *konkukian* (serotype H 34) superinfection: case report and experimental evidence of pathogenicity in immunosuppressed mice. *J. Clin. Microbiol.* 1998; 36(7): 2138–2139.
22. Challacombe J. F., Altherr M. R., Xie G. [et al.]. The complete genome sequence of *Bacillus thuringiensis* Al Hakam. *J. Bacteriol.* 2007; 189: 3680–3681.
23. Hoffmaster A., Ravel J., Rasko D. [et al.]. Identification of anthrax toxin genes in a *Bacillus cereus* associated with an illness resembling inhalation anthrax. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2004; 101(22): 8449–8454.
24. Hoffmaster A., Novak R., Marston C. [et al.]. Genetic diversity of clinical isolates of *Bacillus cereus* using multilocus sequence typing. *BMC Microbiol.* 2008; 8: 191.
25. Oh S. Y., Budzik J. M., Garufi G., Schneewind O. Two capsular polysaccharides enable *Bacillus cereus* G 9241 to cause anthrax like disease. *Mol. Microbiol.* 2011; 80: 455–470.

26. Wilson M., Vergis J., Alem F. [et al.]. *Bacillus cereus* G 9241 makes anthrax toxin and capsule like highly virulent *B. anthracis* Ames but behaves like attenuated toxigenic nonencapsulated *B. anthracis* Sterne in rabbits and mice. *Infect. and Immun.* 2011; 79(8): 3012–3019.
27. Klee S., Brzuszkiewicz E., Nattermann H. [et al.]. The genome of a *Bacillus* isolate causing anthrax in chimpanzees combines chromosomal properties of *B. cereus* with *B. anthracis* virulence plasmids. *PLoS One.* 2010; 5: e 10986.
28. Pilo P., Rossano A., Bamanga H. [et al.]. Bovine *Bacillus anthracis* in Cameroon. *Appl. Environ. Microbiol.* 2011; 77(16): 5818–5821.
29. Luna V., King D., Peak K. [et al.]. *Bacillus anthracis* virulent plasmid pXO2 genes found in large plasmids of two other *Bacillus* species. *J. Clin. Microbiol.* 2006; 44(7): 2367–2377.
30. Leendertz F., Ellerbrok H., Boesch C. [et al.]. Anthrax kills wild chimpanzees in a tropical rainforest. *Nature.* 2004; 430: 451–452.
31. Keim P., Price L., Klevytska A. [et al.]. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis reveals genetic relationships within *Bacillus anthracis*. *J. Bacteriol.* 2000; 182: 2928–2936.
32. Van Ert M., Easterday W., Huynh L. [et al.]. Global genetic population structure of *Bacillus anthracis*. *PLoS One.* 2007; 2: e 461.
33. Hu X., Van der Auwera G., Timmerly S. [et al.]. Distribution, diversity, and potential mobility of extrachromosomal elements related to the *Bacillus anthracis* pXO1 and pXO2 virulence plasmids. *Appl. Environ. Microbiol.* 2009; 75: 3016–3028.
34. Van der Auwera G., Andrup L., Mahillon J. Conjugative plasmid pAw63 brings new insights into the genesis of the *Bacillus anthracis* virulence plasmid pXO2 and of the *Bacillus thuringiensis* plasmid pBT972. *BMC Genom.* 2005; 6: 103.
35. Keim P., Wagner D. Humans and evolutionary and ecological forces shaped the phylogeography of recently emerged diseases. *Nature. Rev. Microbiol.* 2009; 7: 813–821.
36. Han C., Xie G., Challacombe J. [et al.]. Pathogenomic sequence analysis of *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* isolates closely related to *Bacillus anthracis*. *J. Bacteriol.* 2006; 188: 3382–3390.

ON THE ORIGIN AND EVOLUTION OF *BACILLUS ANTHRACIS*

Bilokonov I. I.

National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv, Ukraine

*The paper presents data on the monitoring of the origin and evolution of *B. anthracis*, which show that the microbe became virulent for humans and animals through the initial transformation into *B. cereus* group containing a number of closely related species of many spore forming microorganisms inhabiting soil. This was followed by the divergence of *B. anthracis* from the rest of *B. cereus* group as a result of obtaining virulence factors such as plasmids pXO1 and pXO2, which determine synthesis of the main virulence factors — the toxin and the capsule. The evolution of *Bac. anthracis* and the disease caused by the pathogen occurs at the present time as well, possibly even in a reversed direction, as suggested by multiple observations on the circulation of capsule devoid, avirulent forms in animals and in the environment. The new stage in the evolution of *Bac. anthracis* has started in conjunction with the mass vaccination of animals against anthrax with spore vaccines. In these conditions of vaccination and the presence of active immunity the anthrax bacillus is incapable of infecting an animal, subsequent multiplication, passage to the environment and conversion to the spore form. According to several authors, vegetation of the anthrax microbe in the environmental conditions different from a living organism where the reproduction occurs leads to the loss of virulent properties because they are not required to live in the soil. Other mechanisms of *Bac. anthracis* evolution cannot be excluded when it resides in the soil, especially at old burial sites where the anthrax bacillus can vegetate during the warm season and to be influenced by action of bacteriophages in the form of genetic transduction, transformation and conjugation. At present, the «anthrax-like» diseases of animals and humans caused by virulent strains of *Bac. cereus* and *Bac. thuringiensis* are being registered at increased rate. Diagnosing infectious diseases with clinical and gross-pathological findings of anthrax it is necessary to account the possibility of detection of unusual strains of *Bac. anthracis* or other bacilli. The correct diagnosis of anthrax can be made only with a complex approach including bacteriological and serological examination, biological assays in laboratory animals, and, essentially, molecular-genetic methods*

Keywords: *B. anthracis, B. cereus, genome, plasmids, evolution, anthrax*