

- шиты от инфекционных болезней, при проведении XXII Олимпийских зимних игр и XI Паралимпийских зимних игр 2014 в Сочи. Журн. микробиол. 2015, 1: 109-114.
6. Онищенко Г.Г., Сандахчиев Л.С., Нетесов С.В., Мартынюк Р.А. Биотерроризм: национальная и глобальная угроза. Вестник Российской академии наук. 2003, 73 (3): 195-204.
 7. Онищенко Г.Г., Смоленский В.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Топорков В.П., Топорков А.В., Ляпин М.Н., Кутырев В.В. Актуальные проблемы биологической безопасности в современных условиях. Часть 2. Понятийная, терминологическая и определительная база биологической безопасности. Вестник Российской академии медицинских наук. 2013, 11: 4-11.
 8. Онищенко Г.Г., Шапошников А.А., Субботин В.Г., Простакишин Г.П., Аветисов Г.М. Обеспечение биологической, химической и радиационной безопасности при террористических актах. Под ред. Г.Г. Онищенко. М., 2005.
 9. Попова А.Ю., Демина Ю.В., Ежлова Е.Б., Куличенко А.Н., Рязанова А.Г., Малеев В.В., Плоскирева А.А., Дятлов И.А., Тимофеев В.С., Нечепуренко Л.А., Харьков В.В. Вспышка сибирской язвы в Ямало-Ненецком автономном округе в 2016 году, эпидемиологические особенности. Проблемы особо опасных инфекций. 2016, 4: 42-46.
 10. Попова А.Ю., Сафронов В.А., Воіго М.У., Куклев Е.В., Кедрова О.В., Удовиченко С.К., Лопатин А.А., Раздорский А.С., Ежлова Е.Б., Смоленский В.Ю., Кутырев В.В. Эпидемиологические особенности болезни, вызванной вирусом Эбола, в странах Западной Африки в 2013-2015 гг. Проблемы особо опасных инфекций. 2015, 3: 42-48.

Поступила 10.06.17

Контактная информация: Ефременко Дмитрий Витальевич, к.м.н.,
355035, Ставрополь, ул. Советская, 13-15, р.т. (8652)26-03-12

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

М.П.Червакова, Т.Н.Шаров, И.А.Баркова, А.М.Барков, Д.В.Викторов, А.В.Топорков

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ИММУНОГЕННЫХ БЕЛКОВ ШТАММОВ *BACILLUS ANTHRACIS* В MALDI TOF MS

Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт

Цель. Идентификация иммуногенных белков штаммов *Bacillus anthracis*, продуцируемых в условиях, имитирующих организм хозяина. *Материалы и методы.* В работе использованы культуральные фильтраты изогенных вариантов штамма *B.anthraxis* 575/122: R02 (pXO1⁺ pXO2⁺); R01 (pXO1⁺ pXO2⁻); R00 (pXO1⁻ pXO2⁻), полученные в условиях, имитирующих организм хозяина. В одномерном электрофорезе и иммуноблоттинге с гипериммунными сыворотками определены иммунодоминантные белки, которые идентифицированы в MALDI TOF MS. *Результаты.* В иммуноблоттинге выявлены белки м.м. 97 — 14,1 кДа. Белок 90 кДа штамма *B.anthraxis* 575/122 R01 в MALDI TOF MS идентифицирован как протективный антиген м.м. 85,810 кДа, белок м.м. 60 — как GMP синтаза м.м. 57,239 кДа. В культуральных фильтратах трех штаммов определено два общих антигена: белок с м.м. 97 кДа, идентифицированный как EA 1 *B. anthracis* м.м. 91,361 кДа и белок м.м. 45 кДа — как энولاза *B. anthracis* м.м. 46,418 кДа. *Заключение.* Таким образом, условия, имитирующие организм хозяина, способствуют продукции иммунодоминантных белков *B. anthracis*. В MALDI TOF MS подтверждены данные по молекулярно-весовой характеристике протективного антигена и белка EA1, а также ряда протеаз *B. anthracis*. Результаты могут быть использованы при выделении этих белков с целью усовершенствования диагностических и вакцинных препаратов.

Журн. микробиол., 2018, № 1, С. 52—57

Ключевые слова: *Bacillus anthracis*, иммунодоминантные белки, одномерный электрофорез, иммуноблоттинг, MALDI TOF MS

IDENTIFICATION OF IMMUNOGENIC PROTEINS OF STRAINS OF *BACILLUS ANTHRACIS* IN MALDI TOF MS

Volgograd State Research Institute for Plague Control, Russia

Aim. Identification of obtained in host-simulated conditions immunogenic proteins of isogenic variants of *Bacillus anthracis* 575/122. *Materials and methods.* We used culture filtrate of isogenic variants of *B. anthracis* 575/122: R02 (pXO1⁻ pXO2⁺); R01 (pXO1⁺ pXO2⁻); R00 (pXO1⁻ pXO2⁻), obtained in host-simulated conditions. In the one-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis and immunoblotting with hyperimmune serums immunodominant proteins, that have been identified in MALDI TOF MS. *Results.* Immunoblotting revealed proteins with molecular masses in range 97 — 14.1 kDa. 90 kDa protein from strain *B. anthracis* 575/122 R01 in MALDI TOF MS was identified as protective antigen with 85.810 kDa. Protein with molecular mass 60 kDa was identified as GMP synthase with molecular mass 57.239 kDa. In the culture filtrates of three strains two common antigen were identified: protein with molecular mass 97 kDa, identified as *B. anthracis* EA 1 with molecular mass 91.361 kDa protein and 45 kDa protein as enolase *B. anthracis* with molecular mass 46.418 kDa. *Conclusion.* Thus, the conditions that simulate the host can promote the production of immunodominant proteins of *B. anthracis*. The data about molecular-weight characteristics of protective antigen and EA 1 protein as well as some of proteases of *B. anthracis* are confirmed by the MALDI TOF MS. The results can be used for isolation of these proteins to improve the diagnostic and vaccine preparations.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2018, No. 1, P. 52—57

Key words: *Bacillus anthracis*, immunodominant proteins, dimensional electrophoresis, immunoblotting, MALDI TOF MS

ВВЕДЕНИЕ

Bacillus anthracis — грамположительная спорообразующая бактерия. Капсула и экзотоксин являются основными факторами вирулентности, которые детерминируются плазмидами токсинообразования (pXO1) и капсулообразования (pXO2). Продукция токсинов и капсулы возможна *in vitro*, когда микроорганизм выращивают в анаэробных условиях при температуре 37°C в минимальной безбелковой питательной среде с бикарбонатом. Считается, что таким образом создаются условия, подобные встречающимся в организме хозяина (*in vivo*) [15].

В настоящее время изучаются нативные белки *B. anthracis*, секретируемые во внеклеточную среду (секретомы), которые участвуют во взаимодействии хозяин — патоген, что делает их потенциальными мишенями для иммунодетекции и иммунопрофилактики [7, 8, 10 — 12].

Цель исследования — идентификация иммуногенных белков штаммов *B. anthracis*, продуцируемых в условиях, имитирующих организм хозяина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы изогенные варианты вирулентного штамма *B. anthracis* 575/122, отличающиеся по набору плазмид вирулентности: токсинпродуцирующий *B. anthracis* 575/122 R01 (pXO1⁺ pXO2⁻); капсулосодержащий *B. anthracis* 575/122 R02 (pXO1⁻ pXO2⁺); бесплазмидный *B. anthracis* 575/122 R00 (pXO1⁻ pXO2⁻) [1].

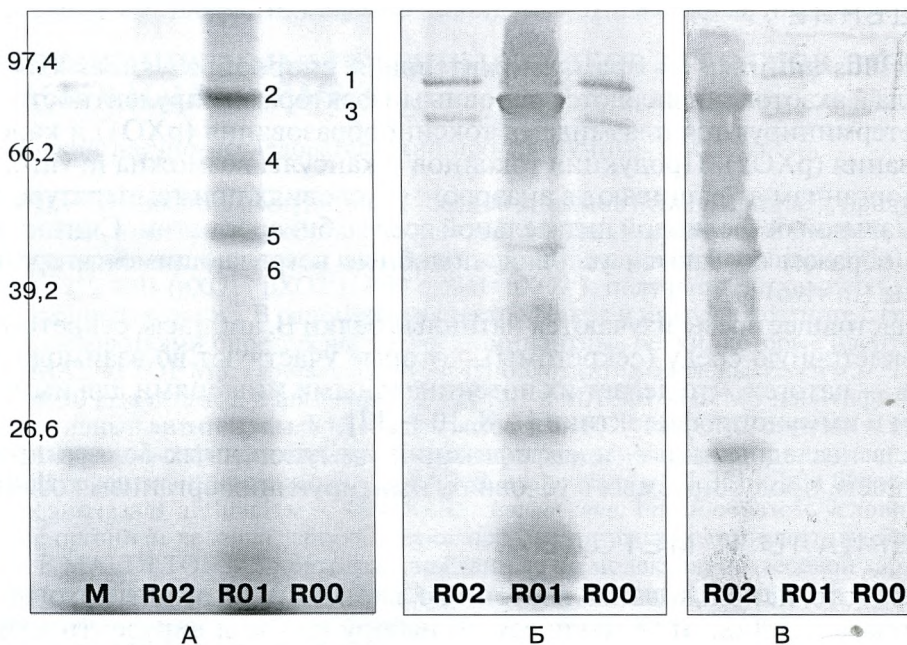
Штаммы засекали на сердечно-мозговой агар, инкубировали в течение ночи (16 часов) при 37°C. Единичные колонии суспендировали в 2 мл R среды

[13] и 1 мл полученной суспензии заседали в 100 мл R среды с 0,25% (вес/объем) глюкозы, инкубировали при 37°C в течение 4 часов со встряхиванием при 120 оборотах в минуту. Затем по 10 мл бактериальных взвесей переносили в колбы объемом 500 мл, содержащие 100 мл R среды с 0,25% глюкозы и 0,85% бикарбоната натрия (вес/объем). Три колбы помещали в условия, моделирующие организм хозяина (анаэробные), в CO₂ инкубатор, при 37°C с 5% CO₂. КФ выращивали 18 часов, стерилизовали через фильтр с диаметром пор 0,20 мкм, концентрировали в 10 раз на ультрафильтре PM10 «Amicon».

Осаждение белков бесклеточных культуральных фильтратов (КФ), одномерный электрофорез и иммуноблоттинг проводили по методике, описанной ранее [1, 2]. Белковые фракции из полиакриламидных гелей вырезали, промывали и обрабатывали трипсином в соответствии с протоколом A. Shevchenko et al. [14]. Пептиды после трипсинолиза идентифицировали в MALDI-TOF MS, в качестве матрицы использовали раствор альфа-циано-4-гидроксикоричной кислоты (10 мг/мл) в 0,1% трифторуксусной кислоты и 50% ацетонитрила. Масс-спектры получали с использованием масс-спектрометра Axima Performance™ (Shimadzu) в режиме «Linear Mode» и анализировали с использованием the Mascot Daemon software package (Matrix Science, Boston, MA). Параметры поиска были: число пропущенных сайтов гидролиза не более одного, точность определения массы ±0,5 Da.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведен электрофоретический анализ белков КФ трех генотипов штамма *B. anthracis* 575/122 (рис.). Наибольшее количество интенсивно окрашенных полос определялось у штамма *B. anthracis* 575/122 R01. Все штаммы про-



Иммунодоминантные белки КФ изогенных вариантов *B. anthracis* 575/122, выращенных в условиях, моделирующих организм хозяина.

А — электрофорез; Б — иммуноблоттинг с гипериммунной кроличьей сывороткой; В — иммуноблоттинг с сывороткой зараженной морской свинки. М — маркеры м.м.; R02 — КФ *B. anthracis* 575/122 R02; R01 — КФ *B. anthracis* 575/122 R01; R00 — КФ *B. anthracis* 575/122 R00.

Иммунодоминантные белки культуральных фильтратов изогенных вариантов штамма *B. anthracis* 575/122, идентифицированные в MALDI TOF MS

Белок м.м.(кДа)*	<i>B. anthracis</i> 575/122R01	<i>B. anthracis</i> 575/122 R02	<i>B. anthracis</i> 575/122R00
97	Белок EA1 91,361 кДа	Белок EA1 91,361 кДа	Белок EA1 91,361 кДа
90	Протективный антиген 85,810 кДа	Отсутствовал**	Отсутствовал
87	Отсутствовал	Не идентифицирован	Не идентифицирован
60	GMP синтаза 57,239 кДа	Отсутствовал	Отсутствовал
45	Энолаза 46,418 кДа	Энолаза 46,418 кДа	Энолаза 46,418 кДа
40	Ацетил гамма глутамил фосфат редуктаза <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> 37, 925 кДа	Отсутствовал	Отсутствовал

Примечание. * Мм определена по электрофоретической подвижности, ** на электрофореграмме не окрашивался.

дуцировали белок 97 кДа. Белок с м.м. 87 кДа не визуализировался в КФ *B. anthracis* 575/122 R01. В КФ *B. anthracis* 575/122 R02 выявлялись электрофоретические фракции, сходные с фракциями КФ *B. anthracis* 575/122 R01, за исключением ПА, но они были слабо окрашены. Следует отметить, что КФ содержали компоненты, которые не окрашивались Кумасси, но реагировали с гипериммунными сыворотками (кроличьей и морской свинки), что может свидетельствовать об их небелковой природе либо незначительном содержании. В связи с чем, для MALDI TOF MS использованы иммунодоминантные белки, которые выявлялись антисыворотками и окрашивались Кумасси — белки м.м.: 97, 90, 60, 45, 40 кДа токсинпродуцирующего штамма *B. anthracis* 575/122 R01, 97, 87 и 45 кДа бесплазмидного *B. anthracis* 575/122 R00 и капсулосодержащего *B. anthracis* 575/122 R02 штаммов.

Белковые полосы, окрашенные Кумасси, вырезали из полиакриламидного геля, промывали и обрабатывали трипсином в соответствии с методикой [14]. Протеины идентифицировали в MALDI TOF MS с помощью программного обеспечения MASCOT, сравнивая полученные масс-спектры с референтными значениями базы данных SWISS-PROT. Результаты проведенной идентификации представлены в табл.

ОБСУЖДЕНИЕ

Наряду с известными факторами вирулентности *B. anthracis* (например, ПА, ОФ, ЛФ) определен ряд антигенов, которые могут стать основой для диагностических тест-систем и вакцин [8, 11, 12]. Рекомбинантные белки обладают недостаточной иммуногенностью, в том числе, вследствие отсутствия у них патоген-ассоциированных молекулярных структур микроорганизмов, взаимодействующих с рецепторами врожденного иммунитета [4]. В связи с чем, представлялось целесообразным изучение нативных белков, накапливаемых *in vitro*, с последующей идентификацией иммунодоминантных антигенов, экспрессируемых *in vivo* [7, 15].

В настоящем исследовании одномерный электрофорез в полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия, иммуноблоттинг и MALDI TOF MS использовали для выявления и идентификации иммунодоминантных антигенов КФ изогенных вариантов штамма *B. anthracis* 575/122. Одномерный электрофорез был выбран нами из-за возможности последующего препаративного накопления белков.

Штаммы трех генотипов *B. anthracis* 575/122 выращивали в условиях, мо-

делирующей среду хозяина, что подразумевает инкубацию в жидкой R-среде при 37°C и 5% CO₂ [7, 13, 15]. Электрофоретическая картина при разделении белков КФ штаммов *B. anthracis* 575/122 R00 и R01 не отличалась от картины, описанной ранее [1, 2]. Мажорными белками капсулосодержащего штамма *B. anthracis* 575/122 R02 были белки с м.м. 97 и 87 кДа. При этом другие электрофоретические фракции R02 штамма совпадали со штаммом R01, но очень слабо окрашивались, несмотря на увеличение белковой нагрузки при нанесении на гель. Это можно объяснить влиянием продуктов транскрипции генов *acrA* и *atxA* на экспрессию генов *B. anthracis*. Ген *atxA*, расположенный на плазмиде *pXO1*, контролирует экспрессию путем активации или подавления более сотни генов, отвечающих за вирулентность, расположенных на обеих плаزمиде и хромосоме. Механизм взаимного регулирования генов *acrA* и *atxA* до конца не изучен [9].

Иммуноблоттинг с белками КФ штаммов, выращенных в анаэробных условиях, проводили с гипериммунными сыворотками кролика и морской свинки. Таким образом, выявляли иммунодоминантные антигены, экспрессируемые *in vivo*, которые накапливали *in vitro* в условиях, моделирующих организм хозяина [7, 15]. Иммунные сыворотки реагировали с белками м.м. 97, 90, 60, 45, 40 кДа токсинпродуцирующего штамма (*B. anthracis* 575/122 R01) 97, 87 и 45 кДа бесплазмидного (*B. anthracis* 575/122 R00) и капсулосодержащего (*B. anthracis* 575/122 R02) штаммов.

Иммунодоминантные белки, окрашенные Кумасси, идентифицировали в MALDI TOF MS, для интерпретации масс-спектрометрических данных использовали базу данных SWISS-PROT, которая на сегодняшний момент является одной из самых надежных. Данные о каждом белке, внесенном в эту базу, тщательно верифицированы и включают в себя такую информацию, как вариации структуры, функции белка, ссылки на публикации и многое другое [3]. Белок токсинпродуцирующего штамма 90 кДа был определен, как ПА м.м. 85,810 кДа. По литературным данным ПА имеет молекулярную массу 82,684 кДа, летальный фактор (ЛФ) — 90,337 кДа, отечный фактор (ОФ) — 88,808 кДа [6]. В проведенном исследовании белки, соответствующие ЛФ и ОФ, определены не были. По данным Lamonica J.M. et al. (2007), при проведении протеомного анализа ПА, ОФ и ЛФ были выявлены в КФ вирулентного штамма RA3 (*pXO1*⁺, *pXO2*⁺). Однако в токсинпродуцирующем штамме RA3R (*pXO1*⁺) ОФ и ЛФ не идентифицированы, а ПА был определен в значительно более низком количестве. Авторы связывают это с подавлением транскрипции генов *pXO1*, в связи с потерей плазмиды *pXO2*. Влияние *acrV*, гена регулятора *pXO2*, на гены *pXO1* не изучалось [10].

В нашем исследовании белки м.м. 87 кДа КФ штаммов *B. anthracis* 575/122 R02 и *B. anthracis* 575/122 R00 при помощи MALDI TOF MS идентифицировать не удалось, но их м.м. совпадает с м.м. белка Sap *B. anthracis* (86,7 кДа) [10].

Белки м.м. 60 кДа и 40 кДа токсинпродуцирующего штамма были идентифицированы, как GMP синтаза *B. anthracis* м.м. 57,239 кДа и ацетил гамма глутамил фосфат редуктаза *B. amyloliquefaciens* м.м. 37, 925 кДа.

При одномерном разделении белков КФ трех вариантов штамма *B. anthracis* 575/122 определено два общих антигена: белок с м.м. 97 кДа, идентифицированный как EA 1 *B. anthracis* (м.м. 91,361 кДа), белок м.м. 45 кДа, идентифицированный как энولاза *B. anthracis* (м.м. 46,418 кДа).

Энولاза *B. anthracis* является иммунодоминантным антигеном и фактором вирулентности, позволяет бактериям приобретать поверхностно-связанную

протеолитическую активность путем связывания плазминогена в организме инфицированного хозяина [5, 7, 15].

Иммунодиагностические свойства ПА и белка EA 1, выделенных препаративным электрофорезом, были изучены нами в предыдущих исследованиях [2]. Белок м.м. 46,418 кДа накоплен в препаративном электрофорезе, его свойства не изучались.

Таким образом, в MALDI TOF MS идентифицированы иммунодоминантные антигены изогенных вариантов *B. anthracis* 575/122. Данные белки *B. anthracis* продуцируются *in vivo*, могут быть накоплены в препаративном электрофорезе (*in vitro*) и использованы для усовершенствования диагностических и вакцинных препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барков А.М., Новоженина А.В., Порохня С.В., Ткаченко Г.А., Липницкий А.В. Характеристика изогенных вариантов *Bacillus anthracis* с различным содержанием плазмид вирулентности. Журн. микробиол. 2015, 1: 17-22.
2. Баркова И.А., Червакова М.П., Барков А.М., Новоженина А.В., Викторов Д.В. Диагностическое значение некоторых иммунодоминантных белков изогенных вариантов *Bacillus anthracis*. Клиническая лабораторная диагностика. 2016, 61 (12): 833-838.
3. Краснов Н.В., Лютвинский Я.И., Подольская Е.П. Масс-спектрометрия с мягкими методами ионизации в протеомном анализе. Научное приборостроение. 2010, 20 (4): 5-20.
4. Семенов Б.Ф., Зверев В.В., Хаитов Р.М. Прогноз развития вакцинопрофилактики в первые десятилетия XXI века. Иммунология. 2009, 6: 324-335.
5. Agarwal S., Kulshreshtha P., Bambah Mukku D. et al. Alpha-Enolase binds to human plasminogen on the surface of *Bacillus anthracis*. Biochim. Biophys. Acta. 2008, 1784 (7-8): 986-994.
6. Boyer A. E., Gallegos-Candela M., Lins R.C. et al. Quantitative mass spectrometry for bacterial protein toxins — a sensitive, specific, high-throughput tool for detection and diagnosis. Molecules. 2011, 16: 2391-2413.
7. Chitlaru T., Gat O., Grosfeld H. et al. Identification of *in vivo*-expressed immunogenic proteins by serological proteome analysis of the *Bacillus anthracis* secretome. Infect. Immun. 2007, 75: 2841-2852.
8. Chitlaru T., Zaide G., Ehrlich S. et al. HtrA is a major virulence determinant of *Bacillus anthracis*. Molecular Microbiology. 2011, 81 (6): 1542-1559.
9. Fouet A. AtxA, a *Bacillus anthracis* global virulence regulator. Res. Microbiol. 2010, 161: 735-742.
10. Lamonica J.M., Wagner M., Eschenbrenner M. et al. Comparative secretome analyses of three *Bacillus anthracis* strains with variant plasmid contents. Infect. Immun. 2005, 73: 3646-3658.
11. Liu X., Wang D., Ren J. et al. Identification of the immunogenic spore and vegetative proteins of *Bacillus anthracis* vaccine strain A16R. PLoS ONE. 2013, 8 (3): e57959.
12. Pflughoeft K.J., Swick M.C., Engler D. A. et al. Modulation of the *Bacillus anthracis* secretome by the immune inhibitor A1 protease. J. Bacteriol. 2014, 196 (2): 424-435.
13. Ristroph J.D., Ivins B.E. Elaboration of *Bacillus anthracis* antigens in a new, defined culture medium. Infect. Immun. 1983, 39: 483-486.
14. Shevchenko A., Tomas H., Havlis J. et al. In-gel digestion for mass spectrometric characterization of proteins and proteomes. Nature protocols. 2006, 1 (6): 2856-2860.
15. Walz A., Mujer C., Connolly J. et al. *Bacillus anthracis* secretome time course under host-simulated conditions and identification of immunogenic proteins. Proteome Science. 2007, 5: 11.

Поступила 20.07.17

Контактная информация: Червакова Маргарита Павловна, 400131, Волгоград, ул. Голубинская, 7, р.т. (8442)37-37-74

*A.E. Platonov¹, J. Koetsveld², O.A. Stukolova¹, A.S. Dolgova¹,
H.M. Kolyasnikova^{1,3}, M.G. Toporkova⁴, D.S. Sarkisyan⁵*

БАКТЕРИЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ СЫВОРОТКИ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА НА BORRELIA MIYAMOTOI, ВОЗБУДИТЕЛЯ ИКСОДОВОГО КЛЕЩЕВОГО БОРРЕЛИОЗА (ИКБ-БМ)

¹Центральный НИИ эпидемиологии, Москва; ²Academic Medical Centre, University of Amsterdam, the Netherlands; ³Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова, Москва; ⁴ООО МО «Новая больница», Екатеринбург; ⁵Ижевская государственная медицинская академия

Цель. Целью данной работы было изучение бактерицидного действия сыворотки крови человека на *Borrelia miyamotoi* in vitro. *Материалы и методы.* Спирохеты *B. miyamotoi*, штаммы HT31 и LB-2001, инкубировали в неиммунной сыворотке здоровых доноров (СЗД), в СЗД с инактивированной нагреванием системой комплемента, а также в образцах сыворотки крови переболевших ИКБ-БМ. Жизнеспособность (подвижность) боррелий после инкубации контролировали путем темнопольной микроскопии. Уровень сывороточных антител к специфическим белкам *B. miyamotoi* (ферменту GIpQ и поверхностным белкам Vlp15/16, Vlp18, Vsp1, Vlp5) измеряли с помощью специально разработанного планарного белкового иммуночипа. *Результаты.* Боррелии полностью сохраняют жизнеспособность в неиммунной СЗД, но их подвижность частично или полностью подавляется при добавлении сыворотки крови переболевших ИКБ-БМ или кроличьих антител к *B. miyamotoi*. Имобилизирующее действие иммунной сыворотки в существенной степени ингибируется при ее инактивации нагреванием, что указывает на опосредованность этого эффекта системой комплемента. *Заключение.* Антитело-зависимое комплемент-опосредованное бактерицидное действие сыворотки крови человека, вероятно, не является единственным, 100% эффективным механизмом защиты человека от инфекции *B. miyamotoi*, но требует поддержки со стороны клеточного иммунитета.

Журн. микробиол., 2018, № 1, С. 58—67

Ключевые слова: иксодовый клещевой боррелиоз, *Borrelia miyamotoi*, бактерицидное действие сыворотки, in vitro, антитела, система комплемента

*A.E. Platonov¹, J. Koetsveld², O.A. Stukolova¹, A.S. Dolgova¹,
N.M. Kolyasnikova^{1,3}, M.G. Toporkova⁴, D.S. Sarkisyan⁵*

BACTERICIDAL EFFECT OF HUMAN SERUM ON BORRELIA MIYAMOTOI, CAUSATIVE AGENT OF IXODES TICK-BORNE BORRELIOSIS (ITBB-BM)

¹Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russia; ²Academic Medical Centre, University of Amsterdam, Netherlands; ³Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immunobiological Preparations, Moscow; ⁴Medical Association «New Hospital», Ekaterinburg; ⁵Izhevsk State Medical Academy, Russia

Aim. Our aim was to study the bactericidal effect of human serum on *Borrelia miyamotoi* in vitro. *Materials and methods.* *B. miyamotoi* spirochetes (strains HT31 and LB-2001) were incubated in non-immune serum of healthy donors (SHD) and in heat inactivated complement-depleted SHD, as well as in serum samples of the patients recovered from ITBB-BM. The viability, that is motility, of borrelia after incubation was investigated by dark-field microscopy. The levels of serum antibody to *B. miyamotoi*-specific proteins (GIpQ enzyme and four variable major proteins Vlp15/16, Vlp18, Vsp1, and Vlp5) were measured by specially designed plane protein microarray. *Results.* *Borrelia* fully retain their viability in non-immune SHD, but their motility is partially or completely suppressed by the addition of serum from ITBB-BM convalescents or rabbit antibodies to *B. miyamotoi*. The immobilizing effect of the immune serum is substantially inhibited by its heat-inactivation, which indicates that immobilizing effect is mediated by the complement system.