

ЛЕПТОСПИРАНЫҢ ӨНДІРІСТІК ШТАМДАРЫНЫҢ ҚАСИЕТТЕРІ

К. Е. Мурзабаев, вет. ғылымдарының кандидаты

Жәңгір хан атындағы Батыс Қазақстан аграрлық-техникалық университеті

Тығыз қоректік орталарда эпизоотиялық лептоспира штамдары негізінен S-формалы колониялар түзіп, бірқатар мұражайлық штамдар тегіс, бұдырлы, нүктелі формалы колония түзейді. Лептоспира өсіндерінен алынған клондардың биологиялық қасиеттерін зерттегенде антигендік, иммуногендік және уыттылық қасиеттерінің ерекшеліктері анықталды.

В плотной питательной среде эпизоотические штаммы лептоспир образуют в основном колоний S-образной формы, а некоторые музейные штаммы образуют плоские, шероховатые, точечные формы колоний. Установлено, что при изучении биологических свойств полученных клонов культуры лептоспир имеются отличительные признаки в антигенной, иммуногенной и вирулентных свойствах.

Epizootical strains of leptospira had «S» form, but some strains had pointy desguamabive colonies in a nutrient medium. It was determined that during the study of biological properties of obtained clones of culture leptospira has some parameters in angenical, immynogenical and virulence properties.

Қазақстан Республикасы аймағында кең ауқымға таралып, жіті және клиникалық белгісі нақты көрінбей өтетін, жануарлар лептоспирозының алдын алу мен емдеу, қазіргі таңда ауыл шаруашылығының саласын үлкен экономикалық зардапқа ұшырататын маңызды мәселелердің бірі.

Бүкіл әлемдік денсаулық сақтау ұйымдарының деректері бойынша, лептоспироз ауруы эпидемиологиялық маңызы, экономикалық шығыны жағынан туберкулез және бруцеллез ауруларымен деңгейлес.

Республика көлемінде медициналық және ветеринарлық зерттеушілермен 20 лептоспир сероварлары анықталып, соның 8-і адамдар мен жануарларға патогенді болып табылды: Pomona, Tarassovi, Grippotyphosa, Icterohaemorrhagiae, Canicola, Hebdomadis, Australis, Sejroe.

Көп жылдық тәжірибе нәтижелері көрсеткендей, аурудың таралуы, этиологиялық құрылымы, патогенезі сұрақтары қаралып, ауру қоздырғышының құрылымдық қасиеті, анықтау әдістері және арнайы алдын алу мен емдеу жолдары зерттелуде [1, 2].

Лептоспироз (Leptospirosis) – жануар, құс және адамның табиғи ошақты жұқпалы ауруы. Лептоспиралар (Leptos-нәзік, spira-ирелең-спираль) Spirochaetaceae тұқымдас-тығының Leptospira туыстасына жатады.

Лептоспиралар аэробтар. Лептоспиралар сұйық, қоймалжың және тығыз қоректік орталарда өсіріледі. Олардың жақсы өсуі үшін қоректік ортаға үй қоянының немесе қойдың қан сарысуы қосылады. Соңғы кезде сарысудың орнына альбумин немесе ақуызсыз синтетикалық қоректік заттар пайдаланылады.

Лептоспираның биохимиялық қасиеттері толық зерттелмеген. Көптеген зерттеушілер зардапты лептоспиралардың көмірсуларды және көп атомды спирттерді сіңіретін немесе бұл заттар бар жерде жедел өсетінін дәлелдеп шыға алмады [2].

Ол ортаның 1 литрінде лактозаның, мальтозаның, глюкозаның және басқа көмірсулардың жиналып қалған жағдайда лептоспираның өсуінің тежелуі, тіпті қырылып қалуы орын алған.

Осы келтірілген деректерге сүйене отырып, лептоспираның көмірсуларды ыдыратуы неғайбыл деген тұжырымға тоқталған.

1945 жылы В. И. Терских лептоспироз өсінін қойдан бөліп алғаннан кейін этиологиясын анықтады [3].

Лептоспиралардың химиялық және физикалық факторлардың әсеріне төзімділігі онша емес. Жануарлардың несесінде 4 сағаттан 6-7 күнге дейін, бүйрегінде 12 сағатан 12 күнге дейін, шошқаның тастанды төлінде – бірнеше күн, ет ұлпасында 48 сағ, жаңа сауылған сүтте 8-24 сағ сақталады.

Лептоспиралар нағыз гидробионаттар, олар өзен және көл суларында 200 күн, сарқын суда 10 күнге дейін, садырада 24 сағат сақталады. Ылғал, бейтарап, сәл сілтілі топырақта 43-279 күнге дейін сақталса, құрғақ топырақта 30 мин-12 сағ. аралығында өледі. 76-96 °С-та қыздыру бірден, күн сәулесі мен кептіру 2 сағатта өлтіреді.

Төменгі температурада ұзақ уақыт (мысалы, тоңазытылған шәуетте 1-3 жыл) сақталады. 0,25 % белсенді хлор, 5 % карбол қышқылы, 0,25 % формальдегид, 0,1 % тұз қышқылы ерітінділері лептоспираларды 5 мин ішінде, ал 1 % күйдіргіш натрий бірден өлтіреді.

Қойда ауруды *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira pomona*, *Leptospira tarassovi* тудырады. Халықаралық жіктеуге сәйкес, лептоспира туыстастары 2 түрден: лептоспира-паразиттер (*L. interrogans*) және лептоспира-сапрофиттерден (*L. biflexa*) құралады.

Осы екі түрдің биологиясында ұқсастық пен айырмашылықтар бар.

Ұқсастықтары-морфологиясының бірдейлігі мен ылғал сүйгіштігі микроорганизмдердің – гидробионттарға қатыстылығы, ал айырмашылығы-антигендік, иммуногендік және зардаптылық қасиеттеріне байланысты ерекшеліктері.

Қоздырушының өсуіне қолайлы температура 38-39 °С, зертханада 28-30 °С өсіріледі, өйткені бұндай температурада микробтың өсуі баяуламайды және қоректік ортаның кебуі бәсеңдейді.

Ауру қоздырушы лептоспираның микробтың сапрофитті түрінен айырмашылығы, олар 13 °С-дан жоғары температурада ғана өседі. Қоректік ортаның жайлы қышқылдығы рН 7,0-7,4 [4, 5].

Ресейде және ТМД елдерінде жабайы жануарлар мен адамдардан 13 серологиялық топ, ал ауыл шаруашылық малдарынан 7 серологиялық топ бөлініп алынған.

Бұларға *Icterohaemorrhagiae*, *Pomona*, *Tarassovi*, *Grippytyphosa*, *Hebdomadis*, *Canicola* және *Kazakhstanica* жатады. Зардапты емес, су қоймаларын мекендейтін-лептоспираларда (сапрофиттер) белгілі.

Осы қасиеттеріне байланысты олар серологиялық варианттарға бөлінеді және өзара жақын сероварлар топтарға бірігеді. *L. interrogans* 23 топқа біріккен 202 сероварға, ал *L. biflexa* 38 топқа жататын 63 сероварға бөлінеді. Жүргізіліп жатырған зерттеулер олардың санын одан әрі көбейте түсуі мүмкін [6].

Лептоспироз топырағы ылғалды, гумусы мол, реакциясы бейтарап немесе сілтілі жерлерде жиі кездеседі. Ауру жылдың кез келген маусымында, бірақ жайылымдағы малда жаз-күз мезгілінде жиірек байқалады.

Лептоспироз індет ретінде немесе спорадия түрінде өтеді. Б. Илиясовтың деректері бойынша соңғы кездерде бұл ауру ауыл шаруашылық малдарында көбінесе сыртқы айқын клиникалық белгілерінсіз лептоспира алып жүру немесе иммундеуші субинфекция ретінде тіркеледі.

Аурудың шығуына және таралуына жағдай туғызатын себептер: жайылымның нашарлығы, суаттардың ластығы, малды сапасыз азықтандыру, оларды антисанитариялық жағдайда ұстау, әртүрлі жұқпайтын аурулардың орнын алуы [7].

Зерттеу мақсаты: лептоспира клондарының уыттылық, антигендік және иммуногендік қасиеттерін зерттеп, вакцина дайындау үшін пайдаланылатын лептоспираның өндірістік штамдарын таңдап алу.

Әдістер мен материалдар. Лептоспираларға әртүрлі серологиялық типтер кіреді, олардың антигендік қасиеттері әркелкі. Антигендік жағынан туыстас серотиптер серологиялық топтарға біріктіріледі. Зардапты лептоспиралар антигендік қасиеттері бойынша ажыратылады.

Негізгі таксон-серовар. Қазіргі таңда әлемде зардапты лептоспиралардың 230 серовары анықталып, антигендік туыстастықтарына байланысты 25 серологиялық топқа біріктірілген.

Бүгінгі күні малдың және ауланатын аңдар лептоспирозының негізгі қоздырушысы болатын серотоптарға *Leptospira pomona*, *Leptospira grippotyphosa*, *Leptospira tarassovi*, *Leptospira icterohaemorrhagiae*, *Leptospira hebdomadis*, *Leptospira canicola* жатады және ол 13 серологиялық нұсқаларды құрайды.

Біздің жұмысымыздағы зерттелген мәліметтерге сәйкес лептоспиралардың жинақталуын қамтамасыз ететін тиімді орталар синтетикалық және жартылай синтетикалық болып бөлінеді. Бұл орталарды пайдалану сарысулық орта мен салыстырғанда лептоспиралардың жинақталуын 10 есе артық қамтамасыз етеді.

Бірақ бұл қоректік орталарда өсірілген лептоспиралардың иммуногендік және антигендік белсенділігі сарысулық ортада өсірілгендермен салыстырғанда иммуногендігі 6-7, ал антигендігі 3-4 есе аз.

Қоректік ортаның құрамы тек микроорганизмдердің концентрациясына ғана емес, сонымен қатар биологиялық қасиеттеріне де әсер ететінін ескерген жөн.

1-Кесте – Лептоспира клондарының уыттылық, антигендік және иммуногендік қасиеттері

Лептоспира серотоптары	Колония формалары	Уыттылығы		Антигендік белсенділігі	Иммуногендік белсенділігі
		зақымдалған қалтаауыздар	өлгені		
<i>Pomona</i>	S	3	2	1:320	3
<i>Pomona</i>	R	3	-	1:240	5
<i>Pomona</i>	Нүктелі	3	-	1:160	3/3
<i>Grippotyphosa</i>	S	3	3	1:640	3
<i>Grippotyphosa</i>	R	3	1	1:240	4
<i>Grippotyphosa</i>	Нүктелі	3	1	1:240	3/3
<i>Hebdomadis</i>	S	3	1	1:320	4
<i>Hebdomadis</i>	R	3	1	1:80	5
<i>Hebdomadis</i>	Нүктелі	3	-	1:160	5
<i>Icterohaem</i>	S	3	3	1:320	3
<i>Icterohaem</i>	R	3	2	1:160	5
<i>Icterohaem</i>	Нүктелі	3	-	1:160	5
<i>Tarrasovi</i>	S	3	2	1:640	3
<i>Tarrasovi</i>	R	3	1	1:320	5
<i>Tarrasovi</i>	Нүктелі	3	1	1:320	3/3
<i>Sejroe</i>	S	3	2	1:160	4
<i>Sejroe</i>	R	3	1	1:160	5
<i>Canicola</i>	S	3	2	1:320	3
<i>Canicola</i>	R	3	-	1:240	4

Бұрын жүргізілген зерттеу жұмыстарында анықталғандай, әртүрлі қоректік ортадан бөлініп алынған бір серологиялық топ штамдарының өсуі бірдей болғанымен, олардың иммуногендік қасиеті әр түрлі болуы мүмкін.

Бейім зертханалық жануарлар ағзасы арқылы пассивтелмеген бірқатар лептоспираның мұражайлық және эталондық штамдары 6-8 айда нүктелі, бұдырлы, диск және мақта тәрізді формалы колониялар түзді. Олардың қоректік ортада пайда болу уақыты әртүрлі.

Алынған нәтижелер мен талдаулар. Биологиялық препараттарды дайындау үшін лептоспира өсіндерін іріктеу мақсатында колония түзу формасы біртектес *L. romona*, *L. grippotyphosa*, *L. hebdomadis*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. tarrasovi*, *L. sejiro*, *L. canicola* серологиялық топ лептоспиралары штамдарының «таза» клондары алынған.

Тығыз қоректік ортада Малахов әдісімен себу қолданылды, бірақ буферлік ерітінді орнына минералданған су пайдаланылды. Түзілген колониялардың формасын, өлшемін, жоғарғы бетін, мөлдірлігін, құрылымын зерттедік.

Негізінен барлық лептоспира штамдары стационарлық фазасында диск тәрізді колония түзіп, олардың құрылымы мен мөлдірлігі дәрежесі бойынша бір-бірінен айырмашылығы аз болды.

Қоректік орта құрамының колония формасына әсер ететінін ескеру қажет. Бұл зерттеулер әлі де болса жалғасуда, бірақ алдын ала тексеру нәтижелерінде анықталғандай, сарысулық ортада өсірілген лептоспира өсіндері өзгерістерге аз ұшырайды.

Әртүрлі лептоспира клондарының антигендік, иммуногендік және уыттылық қасиеттерінің салыстырмалы деректері жоғарыдағы 1-ші кестеде берілген.

Тығыз қоректік орталарда эпизоотиялық лептоспира штамдары негізінен S-формалы колониялар түзіп, бірқатар мұражайлық штамдар тегіс, бұдырлы, нүктелі формалы колония түзетіндігі анықталынды.

Лептоспира өсіндерінен алынған клондардың биологиялық қасиеттерін зерттегенде антигендік, иммуногендік және уыттылық қасиеттерінің ерекшеліктері анықталды.

Кестеде берілгендей, диск тәрізді формалы лептоспира клондарының уыттылық қасиеттері жоғары болды.

Нүктелі формалы колониялар авирулентті. Қоян қан сарысуындағы антидене титрі 21-ші күні 1:400 түзуі үшін лептоспироз антигендерінің әртүрлі дозасы алынуы қажет. Бұл жағдайда S-формалы колониялы клондардың иммуногендік белсенділігі жоғары болды.

Одан кейінгі іздену жұмыстары типтік тегіс диск тәрізді колония түзетін мұражайлық, ескі және жаңа бөлініп алынған өндірістік штамдардың бірдей серологиялық топтарының уыттылығы мен иммуногендігін салыстырмалы түрде зерттеуге бағытталады.

Зерттеу нәтижелері көрсеткендей, бөліну немесе алыну жолы әртүрлі лептоспиралардың бірдей серологиялық тобының бір типті колониясына жататындығына қарамастан, олар иммуногендік және уыттылық қасиеттері бойынша ерекшеленеді.

Уыттылығы неғұрлым жоғары штамдар антигендігі және иммуногендігі жағынан соғұрлым белсенді болды.

Лептоспирозға қарсы биологиялық препараттарды алу үшін лептоспира штамдарын іріктеп алудың бірінші сатысы – колония формасы бойынша селекциялау; ал екінші сатысы – селекцияланған S-формалы колониялар арасынан уыттылығы жоғары штамдарды таңдау.

Лептоспираларды микроскоптың күңгірт алаңында қарау кезінде, құйрығы қармақ сияқты диаметрі 0,06-0,1 мкм, ұзындығы 7-10 мкм, қозғалғыш, ақшыл-күміс түсті спираль тәрізді жіңішке жіптер байқалады, сонымен қатар лептоспиралардың қармақсыз түрлері де кездеседі.

Лептоспиралар сұйық қоректік орталарда қозғалғыш, қарапайым қозғалу формаларына: тік, айналмалы және дөңгеленуі жатады.

Морфологиясы мен қозғалу сипатына байланысты, лептоспираларды өзге микроорганизмдерден айна қатесіз ажыратуға болады.

Лептоспиралар кәдімгі анил бояуларымен нашар боялады. Арнайы әдістер (Леватиди бойынша күмістен импрегнациялау, Романовский-Гимза бойынша бояу) тәуір нәтиже береді. Тыныс алуы жағынан аэробтар қатарынан табылатын олар екіге бөліну арқылы көбейеді.

Клетканың ортасы жіңішкереді де ол екіге бөлініп кетеді. Өсіндердің көпшілігі 7-20 күндері, кей кездері 3-5 күн ішінде, сирегірек 1-2 айда тіпті одан да көп уақытта өсіп шығады.

Өндірістік штамдарды өсіру үшін, лептоспиралардың 6 штамы жеке себілген, қошқар қанының сарысуымен белсенділігі төмендетілген, сулы-сарысулы рН 7,2-7,6 ортасы қолданылды. Себінді 7 тәулік бойы термостаттың 29 °С инкубацияланды.

Қолданылған қан сарысуларында лептоспиралардың өсу қасиеті көбіне донор-қошқарлардың қан сарысуының өзіндік қасиеттеріне байланысты.

Ол біздің жүргізген бақылау жұмыстарымызда дәлелденген. Осыған байланысты лептоспиралардың мұражайлық өсіндері пайдаланылып, алдын-ала қан сарысуларында өсу белсенділігі анықталды.

Барлық мұражай өсіндерінде клеткалардың жоғары өсуі байқалған қан сарысулары пайдаланылып, қалған қан сарысулары жарамсыз болып табылды.

Лептоспираларды өсіруге арналған орталарда қошқар қан сарысуының мөлшері 3 %, 5 %, 10 %-дық деңгейді құрады. Қан сарысулары концентрациясына байланысты лептоспира серологиялық топтарының ерекшеліктері айқындалды.

L. romona, *L. grippotyphosa* серологиялық топтарының өсіндері 3-10 % қошқар қанының сарысуында өсірілгенде өзгерістерге ұшырамады. 5-10 % қошқар қанының сарысуында өсірілген *L. hebdomadis*, *L. sejroe*, *L. tarassovi* және *L. icterohaemorrhagiae* серологиялық топтарының лептоспираларын, 3 % қан сарысулық ортада өсірілген лептоспиралармен салыстырғанда едәуір қарқынды өскені байқалады.

Лептоспира өсіндерінің барлық штамдарын өсіру 10 % сулы-сарысулы ортада жүргізіліп, бутылдарда лептоспираларды өндірістік мақсатта көбейту үшін, витамин және аминқышқылдарымен байытылған қоректік орталардағы қошқар қанының 3 % сарысуы қолданылды. Вакциналар өндірісінің үздіксіз циклін қалыптастыру үшін, лептоспираларды қайта себудің уақыты зерттелді.

Лептоспираларды қайта себуді инкубациялаудың 6-7 тәуліктерінен кейін жүргіздік.

Лептоспиралардың шоғырлануы 5-7 тәуліктері микроскоптың күңгірт алаңында «жаншылған тамшы» препаратын қарау арқылы анықталды.

Қорытынды. Лептоспиралардың өсу динамикасы жалпы заңдылықтарға бағынышты болып, олардың көбеюі нақты логарифмдік фазалар бойынша жүреді.

Лептоспиралардың көбею фазасы 3-ші тәуліктен басталып, өсудің үшінші күнімен салыстырғанда 5-8 тәуліктері лептоспиралар 3-4 есеге артып, 15-20-шы тәуліктерге дейін тірі белсенді күйінде сақталды.

ӘДЕБИЕТТЕР

1. Трухманов, Б. Г. Ассоциированные вакцины / Б. Г. Трухманов. – М. : Наука. – 1964. – 92-93 с.
2. Бернасовская, Е. П. Лептоспирозы / Е. П. Бернасовская, Б. Л. Угрюмов, А. Д. Вовк. // 2 изд. перераб. и доп. – Киев: Здоровье. – 1989. – 150 С.
3. Терских, В. И. Лептоспироз людей и животных. / В. И. Терских, – М. : Медгиз. – 1945. – 140 с.
4. Глушков, А. А. Лептоспироз животных / А. А. Глушков. – Лекция МВА. – 1983. – 55 с.
5. Шатров, А. П. Лептоспироз сельскохозяйственных животных и меры борьбы с ним / А. П. Шатров, А. Ф. Кирпичев – Алма-Ата. : Кайнар. – 1971. – 47 с.
6. Агаев, И. А. Самоподдержание природных очагов лептоспироза / И. А. Агаев. // Микробиология. – 1990. – №12. – С. 40-44.
7. Ильясов, Б. К. Связь между распространением лептоспироза среди сельскохозяйственных животных и заболеваемости людей / Б. К. Ильясов. // Животноводство и ветеринария в XXI век:

Действительность и перспективы развития: материалы Международной научно-практической конференции. – Семей. – 2002. – С. 158-163.