

АТТЕНУИРЛЕНГЕН *SALMONELLA DUBLIN 31* ШТАМЫНЫҢ БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚАСИЕТТЕРІН ЗЕРТТЕУ

*А. Е. Жолдасбекова, К. Б. Бияшев,
Б. К. Бияшев, Д. А. Сарыбаева*

Аннотация

Бұл мақалада аттенуацияланған *Salmonelladublin 31* штамның биологиялық қасиетін уытты *S.dublin 373* штаммен салыстыра отырып зерттедік. Зерттеу нәтижесінде аттенуацияланған *S.dublin 31* штам мен уытты *S.dublin 373* штамдарының морфологиялық, биохимиялық, антигендік құрылымы бірдей болды. Аталған штамдардан дайындалған вакцинаның уыттылық қалдығының сақталуы мен элиминация мерзімін анықтау үшін ақ тышқандарға, теңіз шошқасына және жаңа туылған бұзауларға зерттеу жүргіздік. Нәтижесінде аттенуирленген *S.dublin 31* штамның әлсіз уыттылық қалдығына ие екендігін көрсетті.

Кілттік сөздер: сальмонеллез, биологиялық қасиеттер, *Salmonella dublin*, агглютинация, O – және H- монорецептрлер, қансарысу.

Кіріспе

Бүгінгі күні ауыл шаруашылығы саласын дамыту мәселелеріне ерекше мән беріліп, таяу арада ет өнімдерін шетелге шығару міндеті белгіленіп отыр. Бұл ретте, алдағы 5 жыл ішінде 60 мың тонна ет өнімдерін экспорттайтындай әлеуетке қол жеткізу тапсырылды. Ет бағытындағы мал шаруашылықтарын дамытуымыз үшін асыл тұқымды мал санын көбейтуге баса көңіл бөлініп отыр.

«Мал төлден өседі» -дейді халық даналығы. Олай болса, осындай келелі мәселелерді шешуде төлдердің күтіліп-бағылуын жақсылап ұйымдастыру, олардың ауру-сырқаудан аман болуын қадағалау, ауру бола қалған жағдайда уақытында емдеу

әдістерін қолдану, ауруды болдырмау үшін оның алдын-алу шараларын уақытында жүргізу – жалпы мал мамандарынан бастап, сол салада істеп жүрген барлық еңбеккерлердің ең негізгі және күрделі міндеттерінің бірі [1].

Жас төлдердің арасында жиі тараған инфекциялық аурулардың бірі – сальмонеллез. Ауылшаруашылық жануарларының сальмонеллезі, барлық тараған зооантропоноздардың 30% құрайды. Бұл инфекция мал шаруашылығының дамуын тежеп, заманауи әлеуметтік-экономикалық жағдайда талқылауды талап етеді. Сальмонеллезбен күресу барысында бактерия-тасымалдаушылық сұрағы біршама мәселе болып тұр[2].

Соңғы жылдары жанауарлардың сальмонеллезін иммунопрофилактикасында сальмонеллалардың аттенуирленген штамдарынан дайындалған тірі вакциналар қолданылуда. Аттенуирленген вакцинаны қоректік орталарға және жануарларға уытты микроорганизмдерді пассаждау арқылы және физикалық, химиялық, биологиялық факторлардың көмегімен алады [3].

Қазақстанда ондаған жылдар бойы аттениурленген сальмонелла штамдары мен тірі вакциналардың иммунологиялық әсерін зерттеген. Тірі сальмонелла штамдарынан дайындалған вакциналарды

өндіріске енгізуде алғашқылардың бірі болып Б.А. Матвиенко және оның шәкірті К.Б. Бияшев болды. Сальмонеллездің тірі вакцинасы ондаған жылдар бойы апробацияланып, республикамыздың шаруашылықтарында бұзаулардың, шошқалардың, жылқылардың, қойлардың сальмонеллезіне қарсы қолданылып келе жатыр [4].

Жұмысымыздың мақсаты аттенуацияланған *S.dublin* 31 штамын уытты *S.dublin* 373 штамымен салыстыра отыра, оның биологиялық қасиеттерін зерттеп, арықарай аттенуацияланған вакцина даярлау болып анықталады.

Зерттеу материалдары мен әдістері

Ғылыми -зерттеу жұмыстары Қазақ Ұлттық аграрлық университетіне қарасты бактериозға қарсы биотехнология зертханасында және Алматы облысы, Еңбекшіқазақ ауданы, Қаракемер ауылында орналасқан «Хабит» шаруа қожалығында жүргізілді.

Биологиялық препараттарды дайындау үшін бұзаулардың арасында жиі тараған сальмонелла өсінділерін пайдаландық. Зерттеулер үшін вакциндік штамм *S.dublin* 31 және уытты штамм *S.dublin* 373 қолдандық. Аттенуацияланған *S.dublin* 31 штамының биологиялық қасиеттерін өсінділік, морфологиялық, биохимиялық және антигендік қасиеттерін зерттедік.

Аттенуирленген және вирулентті сальмонелла

штамдарының өсінділік қасиеттерін жасанды қоректік орталарда зерттедік (ЕПА, ЕПС, Эндо ортасы, Хотингер қоректік ортасы). 37°C температурада 18-24 сағатта термостатта өсірдік.

Аттенуацияланған және уытты өсінділердің биохимиялық қасиеттерін қантты және көпатомды спирті бар қоректік орталарда өсірдік. Сонымен қатар, 0,075%-дық жартылай сұйық Андресэ индикаторы бар агарды пайдаландық.

Агглютинациялық қасиеттерін АР арқылы шыны әйнекте поли- және монорецептрлі қансарысуларды пайдалану арқылы жүргіздік. Бақылау ретінде дәл сондай реакция *S.dublin* 373 вирулентті штамына қойылды. Қансарысуларды 1:25, 1:200, 1:400, 1:800, 1:1600, 1:3200, 1:6400, 1:12800 дәрежесінде сұйылттық.

Содан кейін, пробиркаларға 0,05 мл антигенін құйдық. Бұл антигеннің құрамында 1 мл көлемінде 5×10^9 ШТБ *S.dublin* 31 ағардағы тәуліктік өсіндісі бар. Реакцияны санау микроскопиялау арқылы жүргізілсе, ал, оның нәтижелерін төрт кресттік жүйе бойынша бағаладық.

S.dublin 31 штамының уыттылық қалдығы *S.dublin* 373 уытты өсіндісімен салыстырмалы түрде ақ тышқандарға (14-16 г), теңізшошқасына (240-290 г) және бұзауларға (8-10 тәуліктік мерзімдегі) бірнеше рет қайталау арқылы олардың тірі қалуын, вакциналық штамның өсіндісінің элиминация мерзімі мен

Зерттеу нәтижелері

Аттенуацияланған *S.dublin* 31 штамы мен вирулентті *S.dublin* 373 штамы Хотингер ағарында 24 сағаттан кейін беті тегіс, дөңгелек, жылтыр, жартылай мөлдір, шеттері тегіс сұр түсті шоғырлар түзді. Эндо ортасында 24 сағаттан кейін дөңгелек, түссіз, шеттері тегіс жартылай мөлдір шоғырлар түзілді. Сұйық қоректік ортада 18 сағаттан кейін бірдей бұлдыр орта болды.

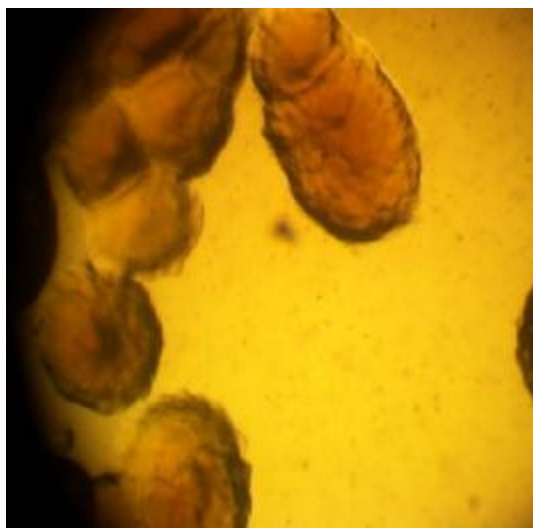
диссеминация үрдісі есепке ала отырып жүргізілді.

Ақ тышқандарды аттенуирленген *S.dublin* 31 штамының тәуліктік өсіндісімен тері астына 5×10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 ШТБ мөлшерінде және құрсақ қуысына 10^6 , 10^7 , 10^8 ШТБ мөлшерінде жүргіздік.

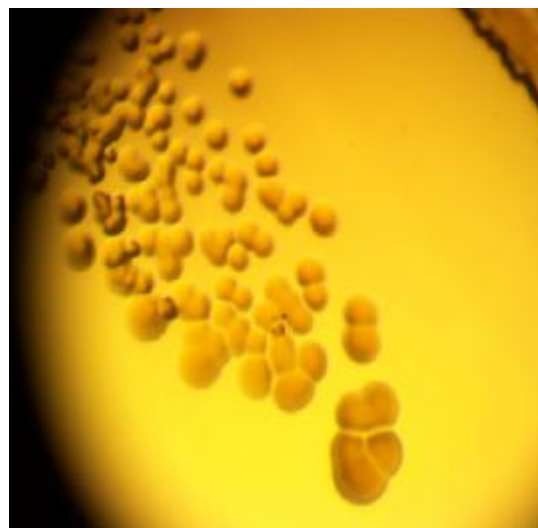
S.dublin 31 штамының уыттылық қалдығы тәжірибеде бұзауларға тері астына, құрсақ қуысына және энтеральді енгізу арқылы зерттелінді. Барлығы тәжірибеде 50 бұзау қолданылды.

Тері асты арқылы зақымдау 5×10^8 , 10^9 , 2×10^9 ШТБ және құрсақ қуысына 2×10^9 мөлшерінде жүргізілді.

Аттенуацияланған және уытты өсінділері жағындыда таяқша тәрізді, ретсіз орналасқан, кейде кішкентай таяқшалардың тізбегі ретінде байқалды. *S.dublin* 373 R- формалы шоғырлар түзсе, *S.dublin* 31 S- формалы шоғырлар түзді. Бактериялар жақсы қозғалу қасиетке ие болды. Грам бойынша теріс боялды.



Сурет 1 R-пішінді *Salmonella dublin 373* шоғырлары



Сурет 2 S-пішінді *Salmonella dublin 31* шоғырлары

Биохимиялық қасиеттерінің нәтижесі бойынша вакциндік және уытты салмонелла штамдары қышқыл түзу арқылы, мальтозаны, галактозаны, рамнозаны,

ксилозаны, глюкозаны, дульцитті, арабинозаны, маннитті, сорбитті ферменттеп, күкіртсутегін түзді (Кесте 1).

1-кесте - Аттенуацияланған *S.dublin 31* штамы мен уытты *S.dublin 373* штамының биохимиялық қасиеттері.

Өсінділер	Индол	Инозит	Дульцит	Лактоза	Ксилоза	Сахароза	Глюкоза	Маннит	Мальгоза	Сорбит	Арабиноза	Ксилоза	H ₂ S
Аттенуацияланған <i>S.dublin 31</i> штамы	ҚГ	ҚГ	ҚГ	-	Қ	-	ҚГ	ҚГ	ҚГ	ҚГ	ҚГ	Қ	+
Уытты <i>S.dublin 373</i> штамы	ҚГ	ҚГ	ҚГ	-	Қ	-	ҚГ	ҚГ	ҚГ	ҚГ	ҚГ	Қ	+

Ескерту - «ҚГ» - көмірсуды ферментацияланғанда қышқыл мен газдың түзілуі;
«Қ» - көмірсуды ферментацияланғанда газдың түзілуі;
«-» - теріс нәтиже;
- бақылау күні 10 күн.

Сонымен қатар, салмонелла штамдары сахарозаны, лактозаны,

салицинді ыдыратпайды және индол түзбейді.

Агглютиндеуші қасиеті кеңейтілген агглютинация реакциясында және заттық әйнек бетінде поли-, моно- рецепторлы қансарысуларымен тексердік. Бақылау ретінде *S.dublin 373* штамын жоғарыда аталған реакция бойынша тексердік.

Қансарысуларды 1:25, 1:200, 1:400, 1:800, 1:1600, 1:3200, 1:6400, 1:12800 мөлшерінде сұйылттық. Содан кейін, пробиркалаға 0,5 мл антигенді қостық (антиген ретінде 1мл-де 5×10^9 ШТБ бар *S.dublin 31* штамының тәуліктік агардағы өсіндісі алынды).

2-кесте - Аттенуирленген *S.dublin 31* штамы мен уытты *S.dublin 373* штамының агглютинабельдік қасиеттерін зерттеу нәтижелері.

Штамның атауы	Қансарысуы (күрғақ)	Сұйылту дәрежесі									
		1:25	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	1:6400	1:12800
Аттенуацияланған <i>S.dublin 31</i> штамы	1	+++	+++	+++	++	+	+	+	-	-	-
	9	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+	-	-
	12	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	-	-	-
	g,p	++++	++++	++++	+++	++	++	++	-	-	-
	ОН	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++	++	-
Уытты <i>S.dublin 373</i> штамы	1	++++	+++	+++	+++	++	++	++	-	-	-
	9	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++	-	-
	12	++++	++++	++++	++++	+++	+++	+++	+	-	-
	g,p	++++	++++	++++	++	++	+	++	+	-	-
	ОН	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	-
Ескерту : «-» - агглютинация жоқ «++»- әлсіз агглютинация «+++» - орташа агглютинация «++++» - күшті агглютинация											

Зерттеудің нәтижесінде вакциндік штамм *S.dublin 31* мен уытты штамм *S.dublin 373* бірдей титрде О-қансарысуы бойынша 1,9,12 (1:25; 1:800), Н-қансарысуы – g,p (1:1600) және жоғары титрде ОН-қансарысуында *S.dublin* (1:6400) мөлшерінде агглютинацияланады (Кесте 2).

Штамм өсінділері АР шыны әйнекшеге қойғанда О-қансарысуына 1,9,12 (++++), Н-қансарысуына g,p (++++) және жалпы «ОН» қансарысуына реакция жүрді. Зерттеу нәтижелеріне сүйене келсек, вакциндік штамм *S.dublin 31* мен уытты *S.dublin 373* штамы

антигендік құрылымы жағынан бірдей.

Аттенуирленген вакциналық штамға қойылатын басты талаптардың бірі – тірі вакцинаның иммундеуші қасиетіне байланысты уыттылық қалдығын сақтау болып табылады. Осыған байланысты барлық тәжірибелер барысында біз уыттылық константтылығына көңіл аудардық.

Зерттеу жұмысында *S.dublin 31* өсіндісімен жұқтырылған барлық тышқандарды 20 тәулік бақылаған кезде 90-100% тірі қалды. Ал, бақылау тобындағы тәжірибелік жануарларды *S.dublin 373* уытты өсіндісімен 10^3 , 10^4 , 10^5 ШТБ мөлшерінде зақымдаған 57-100% дейін өлді.

Осыған ұқсас тәжірибе теңіз шошқаларына қойылды *S.dublin 31* штамын теңізшошқаларының тері астына 2×10^9 , 4×10^9 , 6×10^9 ШТБ

және құрсақ қуысына 5×10^8 , 10^9 , 2×10^9 ШТБ мөлшерінде енгізгенде 20 тәулік бойына 80-100 % тірі қалды, ал бақылау тобындағы *S.dublin 373* уытты өсіндісімен 10^9 , 2×10^9 , 4×10^9 ШТБ мөлшерінде зақымдалған теңізшошқаларының 3-17% тірі қалды.

Жүргізілген зерттеу тәжірибесі *S.dublin 31* вакциналық штамының әлсіз уыттылық қалдығына ие болды.

Бұзауларды энтеральді зақымдауда сүттің аздаған мөлшеріне тәуліктік агар өсіндісінің шайындысымен 2×10^9 ШТБ (9 бұзау) берілді. Әрбір мөлшерді 9-дан кем емес бұзауларда зерттедік (Кесте 3).

Штамның уыттылығы тірі қалу жалпы, жергілікті реакциялар және гастроэнтеритикалық аурулары бойынша бақыланды.

3-кесте - Аттенуирленген *S.dublin 31* штамының бұзауларға қалдықтық уыттылығын зерттеу

Штамның атауы	Тәжірибе дегі бұзаулардың саны	Зақымдану		нәтижелері		Ескертулер
		Енгізу әдісі	Енгізу мөлшері (ШТБ)	Өлді	Тірі қалды	
Аттенуирленген <i>S.dublin 31</i> штамы	9	т/а	5×10^8	-	9	ауырмады
	9	т/а	10^9	-	9	ауырмады
	9	т/а	2×10^9	-	9	ауырмады
	9	к/к	2×10^9	-	9	ауырмады
	9	энтеральді	2×10^9	-	9	ауырмады
Уытты <i>S.dublin 373</i> штамы	5	к/к	2×10^9	5	-	9 тәулік күні өлді
Ескерту- жұқтырылғаннан кейін 20 тәулік бойы бақыладық						

S.dublin 31 вакциналық штамымен тері асты, құрсақ

қуысы және энтеральді зақымдауда жануарларда айқын ауру белгілерін

тудырмады, *S.dublin* 373 уытты өсіндісімен зақымдалған бақылау тобындағы бұзаулар сальмонеллездің жіті түрімен 5-9 тәуліктерінде өлді.

Келтірілген материалдар аттенуирленген *S.dublin* 31 штамының әлсіз уыттылық қалдығына ие екендігін көрсетті.

Сонымен қатар, жануарлар организімінен вакциналық

штамының элиминация мерзімі және дессиминация дәрежесіне зерттеу жүргізілді (Кесте 4).

Вакциналық штамның 10⁶ ШТБ мөлшерінде тері астына зақымдалған ақ тышқандардың ақзалары мен қанынан бөлініп алынған өсінділерді 15 тәулік бойы, ал лимфа түйіндерінен бөлініп алынған өсінділерді 30 тәулік бойы өсірдік.

4-кесте - Вакциндік *S.dublin* 31 штамының элиминация мерзімін 10⁶ ШТБ мөлшерінде ақ тышқандарды тері астына вакциндеу арқылы тексеру

Реттік нөмірі	Өлтіру мерзімі	Себінді жасалған органдар				
		Бауыр	Көкбауыр	Қан	Сүйек кемігі	Шат лимфа түйіндері
1	7 тәуліктен кейін	++++	++++	+	+	++++
2		++++	++++	-	-	++++
3		++++	++++	-	-	++++
4		++++	++++	+	+	++++
5		++++	++++	-	-	++++
1	14 тәуліктен кейін	++++	++++	-	-	++++
2		++++	++++	+	+	++++
3		++++	++++	+	+	++++
4		++++	++++	++++	++++	++++
5		++++	++++	-	+	++++
1	25 тәуліктен кейін	-	+	-	-	+
2		+	-	-	-	+
3		-	+	-	-	-
4		-	-	-	-	+
5		-	-	-	-	++++
1	30 тәуліктен кейін	-	-	-	-	+
2		-	-	-	-	-
3		-	+	-	-	-
4		-	-	-	-	+
5		-	-	-	-	-

Ескерту - +++++ - қалың өсті;
 +++ - 20 шоғырдан жоғары;
 ++ - 10 шоғырдан жоғары
 + - бірлік шоғырлар

Вакциндік штамның 2×10^9 ШТБ дәрежесінде тері астына жұқтырылған бұзауларда алғашқы үш тәулік бойы вакциндік инфекцияның генерализациясы байқалды; 7 тәуліктен кейін лимфалық түйіндерден және

көкбауырдан жақсы себінділер жасалынса, бауыр мен сүйек кемігінен әлсіз болды; 14 тәуліктен кейін көкбауырдан, шат лимфа түйіндерінен бірең-сараң шоғырлар өсті.

Қорытынды

Қорытындылай келгенде, аттенуирленген *S.dublin* 31 штамының биологиялық қасиетін уытты *S.dublin* 373 штамымен морфологиялық, биохимиялық, антигендік құрылымы бірдей болды. Аттенуацияланған *S.dublin* 31 штамы S-формалы, уытты *S.dublin* 373 штамы R-формалы шоғырлар түзді. Аттенуирленген штамның өсіндісі монорецепторлы қансарысулармен жақсы агглютинациялауы және 1, 9, 12, g, r формулалы антигендік қасиетке сай көрсеткіштері S-формасына жатқызуға нақты дәлел болды. Уытты *S.dublin* 373 штамына қарағанда, аттенуирленген *S.dublin* 31 штамы қалдықтық уыттылығы

тұрақты қасиете ие екенін көрсетті. *S.dublin* 31 штамының уыттылығы ақ тышқандарға 1000 есе төмен болды. *S.dublin* 31 штамы ұзақ уақыт бойы өсіріп, оны лиофильдік кептіруден өткізіп, ақ тышқандар мен бұзауларға пассаждау нәтижесінде уыттылық қалдығы тұрақты болды. *S.dublin* 31 вакциналық штамымен тері асты, құрсақ қуысы және энтеральді зақымдауда жануарларда айқын ауру белгілерін тудырмады, *S.dublin* 373 уытты өсіндісімен зақымдалған бақылау тобындағы бұзаулар сальмонеллездің жіті түрімен 5-9 тәуліктерінде өлді.

Әдебиеттер тізімі

1. Пустовар А.Я. Сальмонеллез и лептоспироз сельскохозяйственных животных // Актуальные проблемы патологии сельскохозяйственных животных.-Минск, 2015.-387 с.

2. Бияшев К.Б. Иммунопрофилактика сальмонеллеза сельскохозяйственных животных в Казахстане: автореферат. док. вет. наук: 16.00.03.-Алматы, 1992.- стр.50

3. Patrick L. Mcdonough,* David Fogelman, Sang J. Shin, Michael A. Brunner, and Donald H. Lein (1999, August). *Salmonella enterica* Serotype Dublin Infection: an Emerging Infectious Disease for the Northeastern United States Retrieved March 1, 2017, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC85243/>

Резюме

В данной статье приведены результаты биологических свойств аттенуированного штамма *S.dublin 31* изучались в сравнении с вирулентным штаммом *S.dublin 373*. Наши исследования показали, что аттенуированный штамм *S.dublin 31* и вирулентный штамм *S.dublin 373* сохранили основные культурально-биохимические свойства, присущие этому виду. Остаточная вирулентность вакцинного штамма *S.dublin 31* проверялась в сравнении с вирулентной культурой *S.dublin 373* на белых мышах, морских свинках и телятах в нескольких повторениях, с учетом их выживаемости, диссеминации процесса и сроком элиминации культуры вакцинного штамма. В отличие от вирулентной культуры *S.dublin 373*, аттенуированный штамм *S.dublin 31* обладает стабильной остаточной вирулентностью.

Summary

In this paper, the results of biological recognition of an attenuated strain of *S.dublin31* were studied in comparison with the virulent strain *S.dublin 373*. Our studies showed that the attenuated strain *S.dublin 31* and the virulent strain *S.dublin373* retained the basic cultural and biochemical properties inherent in this species. The residual virulence of the vaccine strain *S.dublin 31* was tested in comparison with the virulent culture of *S.dublin 373* on white mice, guinea pigs and calves in several repetitions, taking into account their survival, dissemination of the process and the elimination of the culture of the vaccine strain. Unlike the virulent culture of *S.dublin 373*, the attenuated strain *S.dublin 31* has a stable residual virulence.