

«Сейфуллин оқулары–12: Ғылым жолындағы жастар - болашақтың инновациялық әлеуеті" атты Республикалық ғылыми-теориялық конференциясының материалдары = Материалы Республиканской научно-теоретической конференции «Сейфуллинские чтения–12: Молодежь в науке-инновационный потенциал будущего». – 2016. – Т.І, ч.1. – Б. 312-315

КЕЙБІР БРУЦЕЛЛЕЗ ВАКЦИНАЛАРЫНЫҢ БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚАСИЕТТЕРІ МЕН ИММУНОГЕНДІЛІГІ

Семжанова Л.

Бруцеллездің алдын алу мақсатында қолданылатын вакциндық бруцелла штамдарының биологиялық қасиеттері, олардың паспорттарында көрсетілген негізгі параметрлері бойынша тексеру жұмыстары жүргізіліп, талапқа сай екендігі анықталынды.

Еліміздің бірқатар аймақтарында мал шаруашылығы дамуына тосқауыл болып отырған жұқпалы аурулардың бірі – бруцеллез індеті.

Бұл ауру көптеген облыстардағы мүйізді ірі қара және уақ мал арасында кең таралып, мал шаруашылығына үлкен экономикалық зиян келтірумен қатар, онымен адамдар да ауыратын болғандықтан үлкен әлеуметтік маңызға ие болып отыр[1].

Осы уақытқа дейін індеттің эпизоотологиясы мен эпидемиологиясына қатысты көптеген мәселелер зерттелініп, оның диагностикасы және спецификалық алдын алу шаралары мен әдістері жасалынып, нәтижесінде осы инфекциямен күресте көптеген жетістіктерге қол жеткізілді[2,3].

Алайда әлі күнге дейін бруцеллезбен күрес мәселелері толықтай шешілген жоқ, әсіресе індеттің алдын алу үшін пайдаланылатын тиімді дәрі-дәрмектер және оны қолдану жолдарын іздестіру өзекті мәселе болып қала береді.

Кеңес Одағы кезінде бруцеллездің алдын алу үшін әртүрлі биологиялық қасиеттерге ие бруцеллезге қарсы бірқатар вакциналар ұсынылған.

Биологиялық қасиеттері бойынша бұл вакциналарды негізгі үш топқа бөлуге болады: 1) агглютиногенді, 2) әлсіз агглютиногенді, 3) агглютиногенді емес.

Вакциналардың бірінші тобына *V.abortus* шт.19, шт.104М, *V.melitensis* Rev-1 және т.б. бруцеллалардың S- штамдардан жасалынған дәрі-дәрмектер жатады. Аталған вакциналар егілген жануарлар ағзасында көп уақытқа дейін (1-3 жыл) поствакцинальды антиденелердің сақталуы, жоспарлы түрде қан арысуын стандартты, биофабрикалық диагностикумдармен серологиялық реакцияларда зерттеулер жүргізуге кедергі келтіреді. Бұл өз кезегінде уытты бруцелла қоздырғышымен залалданған малды, вакцина егілген сау малдардан ажыратуды қиындатады[4].

Вакциналардың екінші тобына жануарлар ағзасына енгізгенде, поствакцинальды антиденелердің сақталу мерзімі біршама қысқа (6-8 ай)

болатын SR -штамдардан жасалған дәрмектер (V.abortus шт.82, шт.75/79, H-12, KB-27) жатады. Алайда, V.abortus шт. 75/79, H-12, KB-27 вакциналармен егілген жануарлардағы бруцеллезге қарсы иммунитет деңгейі бірінші топ вакциналарын қолданғандығына қарағанда әлсіздеу, ал V.abortus шт.82 вакцинасының иммуногендігі жоғары болғанымен, буаз малдарда іш тастатады [5].

Вакциналардың үшінші тобына R- штамдардан жасалатын V.abortus шт.16/4, K-24, RB-51 және т.б.дәрмектер кіреді. Бұл вакциналар жануарлар ағзасында стандартты, биофабрикалық S-формадағы штамдардан жасалынған диагностикумдармен әрекеттесетін антиденелер тудырмайды және олардың қолданылуы әрі қарай жоспарлы балау жұмыстарына кедергі келтірмейді. Алайда, олар мал ағзасында қажетті деңгейдегі иммунитетті қалыптастыра алмайды [6].

Бруцеллезге қарсы вакциналардың биологиялық қасиеттерін, әсіресе иммуногендігін зертханалық тәжірибеде анықтап отыру қазіргі кезде республикада қолданылып жүрген вакциналар тиімділігі туралы мәліметтер алуға мүмкіндіктер береді [7].

Осы мәселелерді шешу үшін біз ҚазҒЗВИ бруцеллез зертханасында сақталған вакциналық V.abortus 19, 82, және V.melitensis Rev-1 штамдарының биологиялық қасиеттерін анықтап, олардың штамм паспортындағы мәліметтерімен сәйкестігін тексеру мақсатында зерттеу жұмыстарын жүргіздік.

Зерттеуге алынған вакциндық штамдарын әр қайсысын қатты қоректік ортасы бар бактериологиялық пробиркаларға және 1 см³ физиологиялық ерітіндіде микроб торшасының 20 колония түзуші бірлікке (к.т.б.) жеткізіп Петри шынысына ектік те температурасы 37-38 °С термостатқа екі тәулікке қойдық. Белгіленген уақыт өткеннен кейін қоректік ортаға өскен бруцелла өсінділерінің өсу сипатын бақыладық. Өсінділер домалақ, дөңес, дұрыс пішінделген, тегіс формалар түзді.

Осыдан кейін аталған V.abortus 19, V.abortus 82, V.melitensis Rev-1 вакциндық штамдарын Грам және Стампу әдісімен бояған кезде олар қызыл – қызғылт түске боялды. Микроскоппен қараған кезде ұсақ таяқшалар (коккобактерий) түрінде байқалды.

Келесі зерттеу жұмыстарымыз осы вакциндық штамдардың диссоциацияға ұшырауын анықтау болды. Ол үшін Уайт Вилсон, трипафлавин мен термоагглютинация әдістерін қолдандық.

Трипафлавин ерітіндісі 1:500 қатынасында физиологиялық ерітіндіде дайындалды. Майсыздандырылған әйнекке трипафлавин ерітіндісін тамызып зерттеуге алынған екі тәуліктік вакциндық штамдардың қатты қоректік ортадағы өсінділерін ілмекпен алып трипафлавин ерітіндісіне жақсылап араластырып, 2 мин ішінде реакция нәтижелерін бақыладық. Нәтижесінде V.abortus 82 вакцинасының диссоциацияланған бруцелла өсінділері екі минуттан кейін бір біріне жабысып түйінделіп, қауыздар түзіп оң реакция көрсетсе V.abortus 19, V.melitensis Rev-1 бір текті болып, теріс реакция нәтижесін берді.

Термоагглютинация реакциясында анықтау үшін зерттеуге алынған вакциндық штамдардың қатты қоректік ортадағы екі тәуліктік өсінділерін физиологиялық ерітіндіде стандарттық бұлыңғырлықты пайдаланып, бруцеллалардың 1 см³-де 2 миллиард к.т.б. қоймалжындығын жасап, 90-95°С су моншасына 30-60 минутқа қойып, осыдан кейін бөлме температурасында қалдырдық.

Реакция нәтижесін 1 және 24 сағат өткеннен кейін оқыдық. Жүргізілген жұмыстардың нәтижесінде *B. abortus* 19 және *B. melitensis* Rev-1 вакциндық штамдарының өсінділері ешқандай өзгеріссіз қалса *B. abortus* 82 штаммы 30% агглютинацияға түсті.

B. abortus 19 және *B. abortus* 82 вакциндық штамдарында диссоциацияланған торшалардың барын Уайт Вилсон әдісімен анықтау үшін арнайы қоректік ортасы бар Петри тостағанына себінді жасадық. Белгіленген уақыттан кейін өсіп шыққан бруцелла штамдарының шоғырларына кристаллвиолент бояуының жұмыс өсіндісімен күйіп, арнайы бинокулярлы ұлғайтқышпен қарадық.

Нәтижесінде *B. abortus* 19 вакциндық штамдарының диссоциацияланған бұдыр колониялары әр түрлі көк, көкшіл қызыл реңктерге боялды. Тегіс домалақ, жылтыр колониялар көкшіл жасыл түске боялмаған күйде қалады,

B. melitensis Rev-1 вакциндық штамдарының диссоциацияланған колониялары (R-форма) қара күлгін түстен ашық көкке дейін боялды. Тегіс «S» колониялары боялмай ашық сары немесе ашық жасыл түсте сақталды.

Колониялардың жалпы санын және боялғандарын санап диссоциацияланған өсінділер пайызын анықтадық. *B. abortus* 19 және *B. melitensis* Rev-1 вакциндық штамдарының құрамында R-формалы колониялар 5% дан асқан жоқ. *B. abortus* 82 вакциндық штамдарының диссоциацияланған колониялары (R-форма) көк - қызыл және күлгін түске боялып, ал SR колониясының бетінде сызылған көкшіл-күлгін шеңбер байқалды. Боялған колониялардың санын санап диссоциациялану пайызын анықтадық. Штамм құрамында 60% S, 40% R-формадағы бруцеллалар болды.

Brucella abortus 19 вакциндық штаммы 1:50000 фуксині бар агарда жақсы өсіп, 1:50000 тионин бар қоректік ортада өскен жоқ. Егер штамм тионині бар қоректік ортада өсетін болса вакцина жасауға жарамсыз болып табылады

Brucella abortus 82 вакциндық штаммы фуксинде және тионинде жақсы өсті. *Brucella melitensis* Rev-1 вакциндық штаммы фуксин мен тиониннің 1:100000 қатынасында өсті.

Яғни, тинкториялдық қасиеттері бойынша аталған штаммдардың паспорттық мәліметтеріне сәйкес келетіндігі анықталынды.

Зерттеуіміздің келесі кезеңінде жоғарыда көрсетілген вакцина штамдарының иммуногендік қасиеттерін анықтау мақсатында массасы 350-390 грамм теңіз шошқаларына *B. abortus* 19, *B. abortus* 82 штамдарының екі тәуліктік агардағы өсіндісінің 1 млрд к.т.б. және *Brucella melitensis* Rev-1 штаммының екі тәуліктік агардағы өсіндісінің 1 млн к.т.б. тері атына ектік.

Тәжірибеге әрбір вакцина үшін он бастан 30 бас, бақылау тобына 10 (вакцина егілмеген), барлығы 4 топ теңіз шошқалары алынды. Тәжірибе алдында барлық зертхана жануарлары бруцеллезге теріс серологиялық реакциялар берді. Вакцина егілгеннен кейін қанда пайда болатын өзіне тән антиденелерді анықтау үшін әр жеті күн сайын қан алып серологиялық реакцияларда тексердік.

Нәтижесінде вакцина егілген зертхана жануарларында бруцеллез антиденелері шамамен 7 күнде пайда болып 30 күнде ең жоғарғы титрге ие болды.

Бір айдан соң әрбір тәжірибе тобынан 3 бастан теңіз шошқалары сойылып, олардың лимфатүйіндері мен ішкі органдарынан (әр бастан 9 органнан) қоректік орталарға себінді жасадық. Нәтижесінде *B. abortus* 19,82 және *B. melitensis* Rev-1 штамм өсінділері егілген 60-70% теңіз шошқаларының вакцина егілген шап маңындағы лимфалық түйіндерінде шоғырланғаны байқалды. Тәжірибе тобындағы вакцина егілген теңіз шошқаларының ішкі құрыстарында бруцеллезге тән макроскопиялық және патологоанатомиялық өзгерістер тіркелген жоқ. Яғни, зерттелінген вакцина штаммдары теңіз шошқалары үшін уытты емес, ал олардың иммунды компотентті органдарда шоғырлануы бруцеллезге қарсы иммунитет түзу үрдісіне байланысты деп қорытындылауға болады.

Вакциналар егілгеннен 30 күннен кейін тәжірибедегі әр топтан қалған 7 бас теңіз шошқаларына вакцина қалыптастырған иммунитет деңгейін анықтау үшін *B. abortus* 544 вирулентті штаммының жұқтыру дозасының 10 еселік мөлшерімен жұқтырдық.

B. abortus 544 вирулентті штаммының минимальды жұқтыру мөлшерін анықтау үшін алдынала массасы 300-400 г теңіз шошқаларынан әр қайсысы 5 бастан тұратын 5 топ құрып, жануарлардың тері астына осы штаммның екі тәуліктік агардағы өсінінен дайындалған 1 см^3 -дегі 5, 10, 25, 50, 100 микроб жасушаларын жұқтырдық. Жұқтырғаннан кейін бір ай өткен соң жануарларды өлтіріп, бактериологиялық зерттеулерін жүргіздік.

Сойғаннан кейін бауырдан, талақтан (көкбауырдан), сүйек кемігінен және шап, параортальды, жұтқыншақ және мойын лимфа түйіндерінен қоректік ортаға себінділер жасап, штаммның жұғу индексын анықтадық.

Ол 5 микроб жасушасына тең болды. Патогенді штаммен тәжірибе тобындағы жануарларды жұқтыруды вакцинациядан кейін 30 күннен кейін өткіздік.

Нәтижесінде бруцелла *B. abortus* 82, *B. abortus* 19 және *B. melitensis* Rev-1 вакциналарымен егілген теңіз шошқаларында иммунитет 80-100% деңгейінде болғаны анықталыны, ал иммунделмеген, бақылау тобындағы теңіз шошқаларының бәрінен бруцелла өсіндісі бөлініп алынды, яғни олар 100% инфекция жұқтырды.

Жүргізілген зерттеулерді сараптай келе «ҚазҒЗВИ» ЖШС бруцеллез зертханасының жұмыс коллекциясында сақталынған *B. abortus* 82, *B. abortus* 19 және *B. melitensis* Rev-1 вакцина штаммдары арнайы рәсімделген паспорт мәліметтеріне сәйкес келеді. Бұл өз кезегінде аталған вакциндық

штамдарды магистрлік зерттеу жұмыстарының келесі тапсырмаларын орындауға болатындығын көрсетеді.

Әдебиеттер тізімі

1. Иванов Н.П. Бруцеллез животных: Методы и средства борьбы с ним. - Алматы, 2002. – 351с.
2. Студенцов К.П. Бруцеллез животных. - Алма-Ата: Кайнар, 1975,-236 с.
3. Султанов А.А., Тен В.Б., Михалев А.Н., Мустафин М.К., Канжигитов Е., Абуталип А., Воробьев А.Л. Некоторые изменения в стратегии ликвидации бруцеллеза животных //Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 60 летию Таджикской НИВИ Душанбе. Профилактика болезней животных в современных условиях.– Душанбе, 2003, С 72-75.
4. Шумилов К.В. Разработка и усовершенствования средств и методов специфической профилактики и диагностики бруцеллеза животных: автореф. дис.докт.вет.наук. в форме науч.докл.-Москва, 1987.- 46 с.
5. Никифоров И.П. Живые слабоагглютиногенные вакцины в системе противобруцеллезных мероприятий: дис.докт. вет. наук (в форме научного доклада). – Барнаул, 1996. – 47с.
6. Триленко П.А. Бруцеллез сельскохозяйственных животных.- Л, 1976, - 280 с.
7. Biljana Radojičić, Kushaliev K.Z. Kakishev M.G. Poređenje imunoloških promena u organizmu zamoraca posle primene dva tipa vakcina protiv bruceloze//Veterinarski specijalistički institut „Niš“ Naučno-stručni simpozijum "Bruceloza u Jugoistočnoj Evropi" - Republika Srbija Beograd - 16-19 Oktobar 2013 – P. 120-125.