

**ВИРУЛЕНТНОСТЬ И ФАКТОРЫ
ПАТОГЕННОСТИ ШТАММОВ ЛЕЙШМАНИЙ
ИЗ НИЖНЕСУРХАНДАРЬИНСКОГО ОЧАГА
КОЖНОГО ЛЕЙШМАНИОЗА**

Ф. Ш. Насыров и К. А. Юсупов

Узбекский научно-исследовательский институт
медицинской паразитологии им. Л. М. Исаева. Самарканд

Изучена вирулентность и физиологические свойства (факторы патогенности) 13 штаммов *L. tropica major*, выделенных от больных людей из Нижнесурхандарьинского очага кожного лейшманиоза.

Кожный лейшманиоз в г. Термезе регистрируется давно. Военный врач Колпаков наблюдал вспышку этого заболевания среди солдат 13-го Туркестанского линейного батальона в 1898 г. Через год там же 139 случаев заболевания описал Шульгин, а в 1907 г. кожный лейшманиоз отметил Удрюминский (цит. по: Латышев с соавторами, 1974). Все исследователи характеризуют кожный лейшманиоз в г. Термезе (клиническое течение, эпидемиологию и т. д.) не как антропонозный (городской), а как зоонозный (сельский) (Недоспелова с соавторами, 1968; Джабаров, Недоспелова, 1968; Джабаров с соавторами, 1974; Латышев с соавторами, 1974 и др.).

В комплексе противолейшманиозных мероприятий видное место занимает специфическая профилактика заболевания; поэтому необходимо постоянно заботиться о том, чтобы всегда имелись штаммы, отвечающие требованиям Временным МРТУ-42 № 226—67 на прививочной материал против кожного лейшманиоза, а именно используемый штамм должен обладать достаточно высокой вирулентностью и при инокуляции обеспечивать доброкачественное течение лейшманиозного процесса с формированием в организме привитого в последующем напряженного иммунитета. Исследуя вопросы природы вирулентности, следовало изучить штаммы не только разного происхождения — от больного человека, привитого от больных животных или москитов, но и выделенные в разных природных очагах кожного лейшманиоза Узбекской ССР. Эти причины побудили нас заняться изучением штаммов, выделенных в одном из древнейших природных очагов кожного лейшманиоза — в г. Термезе. Результаты экспериментов по определению основных биологических свойств этих штаммов и приведены в данном сообщении.

Изучены 13 штаммов лейшманий, выделенные в ноябре 1969 г. и в октябре 1970 г. из лейшманиом больных людей, спонтанно заразившихся в г. Термезе. Штаммы культивировались на среде NNN—агар при температуре 22—23°. Морфологические и культуральные свойства изучаемых культур не отличались от штаммов, выделенных в разное время из других природных очагов зоонозного кожного лейшманиоза Узбекистана. Вирулентность штаммов изучалась методом биопробы — в опытах внутрикожной инокуляции взвеси паразитов в оба уха белым мышам. Каждым штаммом заражали 8—15 мышей. Культуру, выращенную в двухфазной среде NNN в течение 8—10 суток, вводили каждой мышке по 0.8—1.0 млн

лептомонад в объеме 0.05 мл в каждую ушную раковину. Наблюдения за подопытными животными велись до момента полного завершения язвенного процесса. Все испытуемые штаммы вызвали 100% заражение животных с коротким инкубационным периодом (от 6 до 27.5 дней). Болезнь протекала типично, с бурным течением язвенного процесса, завершившегося, как правило, полным распадом и деформацией ушных раковин. Специфичность заболевания подтверждали как наблюдения за клиническим течением болезни, так и обнаружением типичных лейшманий в соскобах из лейшманиом.

На основании проведенных исследований (100% заражения белых мышей, короткого инкубационного периода и типичной клинической картины болезни) все изучаемые культуры лейшманий идентифицированы как высоковирулентные штаммы. *Leishmania tropica* var. *major*. Результаты исследований приведены в табл. 1.

Т а б л и ц а 1
Вирулентность штаммов лейшманий для белых мышей

Наименование штаммов	Пассаж	Число животных		Длительность инкубации (в днях)	Начало изъязвления (в днях)
		заражено	из них заразились		
1 Тб	5	8	8	22.2	94
2 Тб	5	10	10	8.0	73
3 Тб	5	8	8	27.5	87
4 Тб	9	15	15	10.0	63
5 Тб	5	10	10	7.4	87
6 Тб	6	8	8	6.0	66
7 Тб	6	9	9	10.8	77
8 Тб	4	15	15	9.4	87
9 Тб	6	9	9	10.8	77
10 Тб	4	9	9	8.3	87
11 Тб	4	10	10	8.8	87
12 Тб	4	12	12	9.5	87
13 Тб	4	10	10	9.4	87
Всего		133	133	$\bar{X}=11.3$	$\bar{X}=81.4$

У изучаемых штаммов, помимо вирулентности, исследовали наличие так называемых факторов патогенности — ферментов (гиалуронидазы, фибринолизина, плазмокоагулазы), фактора, распространения Дюран-Рейнальса и дермонекротоксина, которые являются, по мнению многих исследователей, косвенными показателями патогенности микроорганизмов (Чистович, 1961; Тимаков с соавторами, 1968; Мельников с соавторами, 1969, и др.). В основу методов определения указанных факторов патогенности у лейшманий были положены методики, успешно используемые в микробиологии. Определение гиалуронидазной активности проводилось по способу Мак-Клина в модификации Смирновой (1951); фибринолизин изучался по методике Бауэр-Сморозинцева, описанной Квашниной (1960); плазмокоагулирующая активность лейшманий изучалась по методике, описанной Выгодчиковым (1950), Чистовичем (1961), Фолянцем (1964); фактор распространения изучался по методу, описанному Тараториной (1947), Фолянцем (1964) и Дурсуновой (1964) и дермонекротоксин определялся внутрикожным методом.¹

Взвеси культур, используемые для постановки опытов, проверялись нами на неспецифическую стерильность. С этой целью из взвеси испытуемых культур делали высеив на контрольные среды — сахарный бульон, полужидкий сывороточный агар, среду Китт-Тароцци, скошенный пита-

¹ Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования под ред. М. О. Биргера, 1967, стр. 252.

тельный агар Д, 5% кровяной агар и среду Сабуро. Все контрольные пробы инкубировали в соответствующих условиях в течение 6 суток.

Эксперименты по определению факторов патогенности у испытуемых штаммов проводились со взвесями разной густоты (от 110 тыс./мл до 200 млн/мл), разного пассажа (от 3-го до 28-го) и разного срока инкубирования (от 6 до 12 суток).

Эксперименты по выявлению фактора распространения ставились на кроликах-альбиносах весом 2.5—3.0 кг. В опытах использовались взвеси паразитов в трех последовательно убывающих дозах, кратность разведения которых была 10. Обычно нами испытывались дозы (0.01, 0.1 и 1.0 млн паразитов). Взвесь испытуемой культуры с добавлением стерильного 1% раствора трипановой сини в соотношении 1 : 1 вводили кроликам строго внутрикожно в объеме 0.1 мл. Контролями служили смесь трипановой сини с 0.85% раствором хлористого натрия (основной контроль), 0.2% раствором пептона, водным экстрактом среды NNN, которые вводились кроликам также внутрикожно в том же объеме, что и испытуемая культура. Площадь распространения краски с контрольными препаратами считали постоянной величиной, равной единице. Результаты опытов учитывались через 30 мин. от момента введения культуры, а затем через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 24 и 48 часов. В дальнейшем наблюдения проводились в течение месяца, через каждые 5 дней определяли коэффициент кожной проницаемости, представляющий отношение площади распространения краски в опыте и в контроле.

Дермoneкротоксические свойства испытуемых штаммов определялись также на кроликах-альбиносах, в том же объеме, в трех последовательно убывающих дозах (0.02, 0.2 и 2.0 млн паразитов), но без добавления трипановой сини. Контролями служили те же препараты, что и в опытах Дюран-Рейнальса, но без добавления краски. Результаты этих экспериментов приведены в табл. 2, из данных которой видно, что у испытанных штаммов гиалуронидазная активность не выявлена. Фибринолитическая активность выявлена у 9 из 13 испытанных штаммов (69.2%). Плазмокоагулирующей способностью обладали 10 штаммов (76.9%). Фактор распространения обнаружился у всех штаммов, т. е. коэффициент распространения (диффузия краски в коже) превышал единицу. При испытании максимальных доз паразитов это превышение обычно было значительным и коэффициент у некоторых штаммов превышал 5—7. Как правило, степень выраженности фактора у всех штаммов закономерно нарастала с увеличением испытуемой дозы паразитов.

Т а б л и ц а 2

Характеристика факторов патогенности штаммов лейшманий

Наименование штаммов	Факторы патогенности					
	гиалуронидаза	фибринолизин	плазмокоагулаза	фактор Дюран-Рейнальса	дермoneкротоксин	
					гиперемия + инфильтрат	гиперемия + инфильтрат + некроз
1 Тб	—	—	+	+	+	+
2 Тб	—	—	—	+	+	—
3 Тб	—	—	—	+	+	+
4 Тб	—	+	—	+	+	+
5 Тб	—	+	+	+	+	+
6 Тб	—	—	+	+	+	+
7 Тб	—	+	+	+	+	—
8 Тб	—	+	+	+	+	+
9 Тб	—	+	+	+	+	+
10 Тб	—	+	+	+	+	+
11 Тб	—	+	+	+	+	+
12 Тб	—	+	+	+	+	+
13 Тб	—	+	+	+	+	+

Испытуемые штаммы обладают резко выраженными дермонекротоксическими свойствами, которые характеризовались появлением отчетливой зоны гиперемии и инфильтрата. Из 13 изученных штаммов 11 (84.6%) при этом вызывали, помимо обычных кожных проявлений (гиперемии и инфильтрата), формирование очага некроза (до 0.3—0.5 мм в диаметре), который завершался рубцеванием в среднем через 8.6 суток. С известной осторожностью можно предположить, что в составе дермотоксина лейшманий, особенно у высоковирулентных штаммов, присутствует некротоксин, вызывающий образование очага некроза, но этот вопрос требует дальнейшего изучения и подтверждения. Степень выраженности кожных проявлений, отмечаемых в каждом опыте — возникновение зоны гиперемии, инфильтрата, или некроза, как правило, возрастали с увеличением дозы паразитов.

ВЫВОДЫ

1. Проведенные исследования свидетельствуют о циркуляции высоковирулентных штаммов *Leishmania tropica* var. *major* в г. Термезе.
2. При испытании штаммов лейшманий на наличие факторов патогенности гиалуронидаза не обнаружена. Фибринолитическая активность выявлена у 69.2% штаммов, а плазмокоагулирующая — у 76.9%.
3. Фактор Дюран-Рейнальса и дермонекротоксические свойства обнаружены у всех испытанных штаммов, причем степень выраженности их закономерно возрастает с увеличением испытываемой дозы паразитов.
4. Высоковирулентные штаммы *L. tropica major*, выделенные в Термезском эпидемиологическом районе, могут быть использованы для приготовления прививочного материала против кожного лейшманиоза.

Литература

- В ы г о д ч и к о в Г. В. 1950. Микробиология и иммунология стафилококковых заболеваний. М.
- Д ж а б б а р о в Л. Н., М а х м у д о в Э. М. и Ю с у п о в Д. Ю. 1971. Некоторые актуальные вопросы остро некротизирующегося кожного лейшманиоза в городе Термезе. Тез. докл. научн. конф. по паразитол., Самарканд—Тайляк : 4—5.
- Д ж а б б а р о в Л. Н. и Н е д о с п е л о в а Е. И. 1968. Изучение резервуара возбудителя кожного лейшманиоза сельского типа в Нижнесурхандарьинском очаге. Матер. респ. научн. практ. конф. по пробл. «Основные паразитарн. болезни, их предупр. и леч.», ч. I. (Термез, 27—28 мая 1968 г.), Ташкент : 43—45.
- Д у р с у н о в а С. М. 1964. Фактор проницаемости в культуре лептонад. Тр. Ашхаб. н.-иссл. инст. эпидемиол. и гигиены, Ашхабад, 6 : 251—252.
- К в а ш н и н а А. С. 1960. Фибринолитическая способность и ее значение в патогенном действии микроорганизмов. Автореф. докт. дисс., М.
- Л а т ы ш е в Н. И., К р ю к о в а А. П., П о в а л и ш и н а Т. П. и И в а ш к и н а К. А. 1971. Кожный лейшманиоз в Термезе. Научн. практ. конф. по мед. паразитол. (Ургенч, апрель 1971 г.), Самарканд : 178—183.
- М е л ь н и к о в Н. И., М е л ь н и к о в В. Н. и Г и м р а н о в М. Г. 1969. «Ферменты патогенности» и токсины бактерий. М.
- Н е д о с п е л о в а Е. И., Б а л у я н ц Э. С. и П р и л у к о в В. М. 1968. К вопросу клиники кожного лейшманиоза сельского типа в Сурхандарьинской области. Матер. респ. науч. практ. конф. по пробл. «Основн. паразитарн. болезни, их предупр. и леч.» (Термез, 27—28 мая, 1968 г.), Ташкент, ч. I : 73—74.
- С м и р н о в а Л. Г. 1951. Препарат гиалуроновой кислоты для определения инвазивных свойств микробов. Журн. микробиол., 10 : 52—56.
- Т а р а т о р и н а О. М. 1947. К вопросу о факторе Дюран-Рейнальса и его значении у микробов. Журн. микробиол., 9 : 54—59.
- Т и м а к о в В. Д., Л а р и о н о в а Г. И., К у д л а й Д. Г. и П е т р о в с к а я В. Г. 1968. Ферментная активность бактерий в связи с их вирулентностью. Журн. Микробиол., 3 : 3—16.
- Ф о л и я н ц А. В. 1964. Значение ассоциации протей и энтерококков в гнойных заболеваниях. Автореф. дисс. канд. мед. наук, Ташкент.
- Ч и с т о в и ч Г. Н. 1961. Ферменты защиты и агрессии. В кн.: Патогенез стафилококковой инфекции, Л. : 42—66.

VIRULENCE AND PATHOGENICITY FACTORS OF THE LEISHMANIA
STRAINS FROM THE NIZHNESURKHANDARJA NIDUS
OF CUTANEOUS LEISHMANIASIS

F. Sh. Nasyrov and K. A. Jusupov

S U M M A R Y

13 strains of *Leishmania* isolated from sick persons in the town of Termez were studied. They are identified as highly virulent strains of *Leishmania tropica* var. *major*. The determination of the pathogenicity factors has shown that all the above strains do not contain hyaluronidase, only 9 of them (69.2%) contain fibrinolysin and 10 strains (76.9%) contain plasmocoagulase. Duran-Reynals factor and dermonecrotosis properties were discovered in all the strains. The degree of their expression increases with an increasing dose of investigated parasites. Termez strains can be successfully used for the preparation of inoculation material against cutaneous leishmaniasis.
