




УДК 619.616.61724.8.559.59

Мамадуллаев Г.Х.,
 Рўзимуродов М.А.,
 Саидов А.А.,
 Файзиев У.М.,
 Жўракулов О.К.,
 Ветеринария илмий
 тадқиқот институти.
 Арзимурадова Р.Э.,
 Самарқанд ветеринария
 медицинаси институти

ВИТИ-БИОВЕТ ТУБЕРКУЛИН ДИАГНОСТИКУМИНИНГ МАХСУС ФАОЛЛИГИ

 <http://dx.doi.org/10.26739/2181-1008-2021-2-9>

АННОТАЦИЯ

Мақолада ВИТИ туберкулёзни ўрганиш лабораторияси олимлари ва БИОВЕТ МЧЖ илмий ходимлари томонидан ҳамкорликда ишлаб чиқарилган “ВИТИ-БИОВЕТ” туберкулин тажриба-экспериментал сериясининг махсус фаоллигини лаборатория синовлари натижалари келтирилган.

Тадқиқот натижаларига кўра, ишлаб чиқарилган туберкулин диагностиками етарли махсус фаолликка эга эканлиги аниқланган. БЦЖ вакцинаси билан эмланган денгиз чўчкачалари организмида туберкулин диагностиками 49000 ТБ (туберкулин бирлиги) махсус фаоллик кўрсатди.

Калит сўзлар. Туберкулёз, штамм, микобактерия, бовис, доза, вакцина БЦЖ, аллергия, аллерген, титр, диагностикам, ППД туберкулин, ТБ, туберкулинизация, сенсibiliзация, папула, махсус фаоллик.

Мамадуллаев Г.Х.,
 Рузимуродов М.А.,
 Саидов А.А.,
 Файзиев У.М.,
 Журакулов О.К.,
 Научно-исследовательский
 институт ветеринарии
 Арзимурадова Р.Э.,
 Самарқандский институт
 ветеринарной медицины

СПЕЦИФИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ВИТИ-БИОВЕТ ТУБЕРКУЛИНА

АННОТАЦИЯ

В статье приводятся результаты лабораторных испытаний опытной серии туберкулина “НИИВ-БИОВЕТ” разработанного в лаборатории по изучению туберкулёза НИИВ совместно с сотрудниками ООО “Биовет”.

По результатам исследований препарат туберкулин обладает достаточной специфической активностью. В опытах на морских свинках сенсibilизированных вакциной БЦЖ активность туберкулина составило 49000 ТЕ.

Ключевые слова. Туберкулёз, штамм, микобактерия, бовис, доза, вакцина БЦЖ, аллергия, аллерген, титр, диагностикум, ППД туберкулин, ТЕ, туберкулинизация, сенсibilизация, папула, специфический активность.

Mamadullaev G.Kh.,

Ruzimuradov M.A.,

Saidov A.A.,

Fayziev U.M.,

Jurakulov O.K.,

Scientific-research institute of veterinary

Arzimuradova R.I.,

Samarcand Institute of Veterinary Medicine

THE SPECIFIC ACTIVITY OF TUBERCULIN SRIV-BIOVET

SUMMARY

The article presents the results of laboratory tests of the experimental series tuberculin SRIV-Biovet diagnostic developed in the laboratory for the study of the laboratory tuberculosis Scientific-research institute of veterinary.

According to the research tuberculin drug has sufficient specific activity. In experiments on guinea pigs sensitized with BCG, the activity of tuberculin SRIV-Biovet was 49000 TE.

Key words: tuberculosis, strain, mycobacterium, M.bovis, doses, BCG vaccine, allergy, allergen, diagnostic, PPD tuberculin, tuberculinization, sensitization, papule, special activity.

КИРИШ. Ветеринария амалиётида туберкулёз юққан ҳайвонларни аниқлаш учун туберкулин препарати ёрдамида алергик туберкулинизация услуги қўлланилади. Туберкулин препаратини ҳайвонларга юборишнинг бир неча хил усул ва услублари мавжуд. Жаҳон амалиётида туберкулин препаратини тери орасига юбориш услуги кенг қўлланилади. Бу услуб сезгир, ишончли ташхис услуги бўлиб, ўзининг осон бажарилиши, оддийлиги, тезлиги ва оммавий текширишларда кенг қўлланилиши билан афзалликка эга (2; 3). Аммо, туберкулинодиагностикада ҳам ўзига хос муаммолар мавжуд.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Туберкулёз алергияси - иммунологиянинг классик мисоли бўлсада, хусусан туберкулёз касаллигида алергия масаласи тўлиқ ўрганилмаган ва мавҳум муаммо бўлиб келмоқда. Фанда туберкулёз алергияси ҳақида ҳали маълумотлар кам, секин типда чақириладиган алергия субстрати ҳозирча номаълум (6).

Туберкулёзга алергик текширишнинг моҳияти шундан иборатки, туберкулёз қўзғатувчиси ёки бошқа турдаги микобактериялар юққан ҳайвонларни туберкулин синамаси ёрдамида аниқлаш ҳисобланади (1).

Симультан текширишни қўллаш алергия махсуслигининг тур бўйича мутаносиблигига асосланган бўлиб, ҳайвонларда сенсibilизация чақирган ва авлод жиҳатидан бир-бирига яқин микобактерияларга яққол жавоб реакцияси бериш билан ифодаланади (5). Ҳайвонларда туберкулинга нисбатан жавоб реакциясини баҳолашда тери реакциясининг пайдо бўлиш тавсифи ҳайвоннинг умумий физиологик ҳолати ва организмни қайси тур микобактериялар билан сенсibilизацияланганлигига ва ўша турга оид туберкулинга жавоб реакцияси натижаси билан баҳоланади (4).

Сўнги йилларда ВИТИ туберкулёзни ўрганиш лабораторияси ва Тошкент шаҳрида жойлашган “Биовет” МЧЖ билан ҳамкорликда маҳаллий ППД туберкулин диагностикаси ишлаб чиқарилди. Препаратнинг махсус фаоллиги ВИТИ туберкулёзни ўрганиш лабораториясида синовдан ўтказилди.

Материал ва методлар. Туберкулин ишлаб чиқариш учун туберкулёзнинг қорамол тури штамми қаттиқ тухумли ёки картошкали сунъий электив озика муҳитларига кўчириб экилди. Штамм экилган ва озика муҳитларида етиштирилган колониялар ҳужайраларнинг типик, культурал ва тинкториал хусусиятлари, озика муҳитидаги ўсиш тавсифи текширилди. Штаммнинг вирулентлиги, туберкулиногенлиги, ифлосланмаганлиги ва колониянинг ўсиш маҳсулдорлиги назорат қилинди. ВИТИ туберкулёзни ўрганиш лабораторияси музейида мавжуд *M. bovis* 8-03 штаммининг культурал-морфологик, тинкториал ва бошқа хусусиятлари солиштирма равишда ўрганилди. Культурал услуб билан колонияларни ўсиш тезлиги ва ҳосилдорлиги аниқланди. Бунинг учун электив Левенштейн-Йенсен, Гелберг ва Сотон (суяк синтетик) озика муҳитларидан фойдаланилди. Микобактерияларнинг морфологияси Циль-Нильсен услубида бўялган суртмаларида ўрганилди.

Туберкулёз микобактерияси штамларининг дифференциацияси метил кўк бўёғини рангсизлантириш, пигмент ҳосил қилиш, ҳар хил ҳароратда ўсиш тезлигини ўрганиш, лаборатория ҳайвонлари учун патогенлиги ва бошқа хусусиятлари ўрганилди.

Туберкулин тайёрлаш учун бовис 8-03 штамми аспарагин ва лимон кислотали модификациялаштирилган Сотон озика муҳитидан фойдаланилди. Бу озика муҳити самарали ўсиш ҳосилдорлиги (1 литр озикадан 600 мг -дан 13 гр. бактериал масса) беради. Бундай муҳитда штамм 8 генерацияга қадар диссоциацияга учрамайди. 2 ой давомида термостатда +37°C ҳароратда ўстирилган бактериал масса автоклавда стерилизация қилиниб фаолсизлантирилди, ишқорсизлантирилди, филтрланди ва “Биовет” МЧЖ туберкулин ишлаб чиқариш цехида қуйилди ва қадоқланди.

Тадқиқотларнинг натижалари ва уларнинг тахлили. Туберкулиннинг тажриба сериясини тайёрлаш учун дастлаб электив Левенштейн-Йенсен озика муҳитида микобактерияларнинг морфологияси Циль-Нильсен услубида бўялган суртмаларида ўрганилди. Штаммни матрли колбаларга экиш учун бактериал масса дастлаб қаттиқ озика муҳитларида 12-18 кун давомида ўстириб олинди. Пробиркаларда ўсиб чиққан туберкулёз колонияларидан бокс шароитида суспензия тайёрланди ва матрли колбаларга Пастер пипеткалари ёрдамида экилди ва $t=+37^{\circ}\text{C}$ ҳароратда термостатда инкубацияга қўйилди ва 60-90 кун муддатгача сақланди. Экилган колбалар бир ҳафтада бир марта тафтиш қилиб борилди.

Матрли колбаларга экилган штамм озика муҳити юзасида дастлаб юпка нозик пленка ҳосил қилиб ўсди. Кейинчалик бу пленка аста секин қалинлашиб бурамасимон кўринишга эга бўлди. Инкубация охирида озика муҳити юзасида қалинлашган ажинсимон кўринишли массага айланди ва оқ-қўнғир рангга эга бўлди. Озика муҳитининг ранги тиниқлигича қолди, баъзан тўқ сариқ ёки тўқ қўнғир рангга киради. Колонияларнинг ўсиш ҳосилдорлиги 2-3 плюс (20-100 ва 100-200) колония даражасида бактериал масса олинди. Культурал суяқликдан бактериал масса центрифуга орқали ажратиб олинди. Олинган бактериал культурал масса 2 атм. босим 110°C ҳароратда 10 минут давомида автоклавда фаолсизлантирилди. Сўнгра $t=+4^{\circ}\text{C}$ ҳароратда 2 ҳафтагача совутгичда сақланди.

Культурал суяқликдан филтрат 50% учхлорсирка кислота ёрдамида чўктириш (4-5% гача пасайгунича) йўли орқали ажратилди (50 мл филтратга 0,1-0,2-0,3 мл). Сўнгра оксил преципитати центрифуга ёрдамида ажратиб олинди. Олинган масса сувда ювиб олинди (диализ) ва яна олтингугурт нордон аммоний эритмаси ёрдамида чўктирилди. Тўқ қўнғир рангли чўктирилган филтрат ва устки пленка қисми ажратиб олинади ва яхшилаб аралаштирилиб (3000 айл.мин) 10-15 минут давомида центрифуга қилинди ва чўкма ажратиб олинди. Ҳосил бўлган тўқ қўнғир рангли туберкулин спиртда (96°) 1:3 нисбатда 3 марта центрифуга ёрдамида ювиб олинди ва оч-қўнғир рангга эга бўлди. Кейинги босқичда туберкулин физиологик эритма ёрдамида филтрация орқали ювиб олинди ва флаконларга қадоқланди.

Ишлаб чиқарилган туберкулиннинг махсус фаоллигини аниқлаш ва стандартлаштириш учун лабораторияда мавжуд альбинос, соғлом, тирик вазни 350-400 гр бўлган 15 бош денгиз чўчкачалари БЦЖ вакцинаси билан 0,2 мг 0,1 см³ дозада қорин териси орасидан эмланди. Бунинг учун Ҳиндистонда ишлаб чиқарилган (Serum inst. Of INDIA PVT LTD №10, сақлаш муддати 2021 йил февралигача) лиофилизацияланган тирик БЦЖ вакцинасидан фойдаланилди. Серия В.НО.:0378 G 190. Леофиллаштирилган вакцина кути ичида ампулада жойлаштирилган 0,9% физиологик эритма билан суюлтирилди.

Ушбу денгиз чўчкачаларида “ВИТИ–«BIOVET»” ППД туберкулин тажриба–экспериментал сериясининг (Серия №4, 2020 йил июл ойида ишлаб чиқарилган; Ts 28346332-01:2019) махсус фаоллиги текширилди. Эмлангандан сўнг 40 кун ўтгач “ВИТИ BIOVET” стандарт эритмали туберкулин препарати денгиз чўчкачаларининг қорин деворига тери орасидан инъекция қилинди.

Назорат сифатида махсус фаолликни солиштириш учун Россиянинг ФГУП «Курск биофабрикаси»да ишлаб чиқарилган «Туберкулин очищенный (ППД) для млекопитающих в стандартном разведении». Серия №08, 07.06.2019 й. ишлаб чиқарилган, яроқлилиги муддати 07.06.2021 й. гача бўлган диагностикамидан фойдаланилди.

Ташкилот стандарти талабига мувофиқ ишлаб чиқарилган ва назорат туберкулинларининг 1; 2; 3 ва 4 титрли эритмалари тайёрланди. Ҳар бир эритма учун алоҳида шприц, игна ва асбоблардан фойдаланилди. Туберкулиннинг махсус фаоллигини текшириш учун қуйидаги усулда туберкулин эритмалари тайёрланди:

М.бовис-8-03 штаммидан тайёрланган туберкулиндан 5 флакон олинди ва ҳар бир флакондан 1,0 мл дан стерил шприц ёрдамида олиб, бир флаконга солиб аралаштирилди. Тайёрланган эритма 1:10 нисбатда суюлтирилди Ҳосил бўлган аралашмадан яна 1 мл олинди ва 4 мл физиологик эритма солинган идишга қуйилди. Ҳосил бўлган эритма яна 1:10 нисбатда суюлтирилди. Идишларда ҳар 1 мл эритмада 1000 МЕ ва 100 МЕ титрли туберкулин ҳосил бўлди. Назоратдаги 3 ва 4–чи эритмалар концентрацияси ҳам шу усулда тайёрланди.

Тажриба ва назорат туберкулинлари денгиз чўчкалари қорин деворининг икки ён томонидан 4-нуқтага 0,1 мл дан тери орасига юборилди. Инъекция жойи жунидан бармоқлар ёрдамида юлиб тозаланди. Инъекция қилинган денгиз чўчкалари рангли фуксин бўёғида белгиланди (биринчи денгиз чўчкаси - бўёқсиз, иккинчиси бош қисми, учинчиси орқа томони ва тўртинчисининг дум қисми бўёқ билан белгиланди).

Жадвал.

Денгиз чўчкалари терисида туберкулинлар ҳосил қилган папулалар ўлчами.

Денгиз чўчкачаларининг шартли рақами ва бўёқ ўрни	1000 МЕ ва 100 МЕ дозада инъекция қилинган туберкулин дозалари ҳосил қилган папула ўлчами, мм			
	“ВИТИ–«BIOVET»” ППД туберкулин, Серия №4, 2020 йил июл ойида и./ч.		«Курск» «Туберкулин очищенный (ППД)». Серия №08, 07.06.2019 й. и./ч.	
	1000 МЕ/мл	100 МЕ/мл	1000 МЕ/мл	100 МЕ/мл
1 бўёқсиз	21	8	20	11
2 бош	24	8	23	12
3 орқа	16	9	16	8
4 дум	17	10	22	13
5 бўёқсиз	20	12	18	10
6 бош	19	9	14	9
7 орқа	21	11	23	10
8 дум	26	11	28	11
9 бош	21	10	20	13
10 орқа	20	10	20	10
Жами	205	98	204	107

Тажриба ва назорат туберкулинлари юборилгандан сўнг 24 соат ўтгач реакция натижаси ўлчанди. Бунинг учун инекция жойида ҳосил бўлган папула контурлари ўлчами рангсиз целофан орқали қоғозга кўчириб олинди ва диаметрлари ўлчанди (жадвал). Аллергенлар юборилган жойда ҳосил бўлган папулалар диаметри формула ёрдамида ҳисобланди ва тажрибадаги туберкулин препаратининг махсус фаоллик кўрсаткичи аниқланди.

$$D_1 = 205 + 98 = 303;$$

$$D_2 = 204 + 107 = 311;$$

$$A = (303 \div 311) \times 50000 = 48713 \approx 49000$$

Текшириш натижасига кўра, ишлаб чиқарилган “ВИТИ–«BIOVET»” ППД туберкулини 49000 ТБ махсус фаоллик кўрсаткичига эга бўлди.

Хулосалар.

1. БЦЖ вакцинаси денгиз чўчқалари организмини сенсбилизациялади ва аллергия реакция ҳосил қилди;
2. Эмланган денгиз чўчқалари терисида “ВИТИ–«BIOVET»” туберкулинига нисбатан секин типда ҳосил бўладиган юқори сезувчанлик ҳосил бўлди;
3. “ВИТИ–«BIOVET»” ППД туберкулини 49000 Туберкулин Бирлигида (ТБ) махсус фаоллик кўрсатди.
4. “ВИТИ-Биовет ППД туберкулин” Ts 28346332-01:201 Ташкилот стандартлари талабларига жавоб беради.

Иқтибослар/ Сноски/ References:

1. Авербах М.М., Литвинов В.И. Иммунобиологические основы противотуберкулезной вакцинации. – М.: Медицина, 1970. – 221 с.
2. Абдыраманова Т. Д. Выявляемость реагирующего на туберкулопротеин крупного рогатого скота и микобактериальная подтвержденное реакций при лабораторных исследованиях в Челябинской области //Материалы международной конференции, посвященной 75-летию УГАВМ,- Троицк, 2005, С 121-123
3. Агапова М.Ф. Микобактериальные и немикобактериальные факторы сенсбилизации организма в проявлении неспецифических туберкулиновых реакций у крупного рогатого скота // Материалы 5-й международной научно-практической конференции «Научное обеспечение АПК Сибири, Монголии, Казахстана, Беларуси и Башкортостана». – Абакан, 2002. – С. 371-373.
4. Головченко, М.В. Результаты сравнительного испытания питательных сред с добавлением различных стимуляторов при выращивании микобактерий //Ветеринарная патология. 2002. - № 1-2. - С. 113-115.
5. ГОСТ 32306-2013 Туберкулины очищенные (ППД) для животных. Технические условия ГОСТ 32306-2013 МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ ТУБЕРКУЛИНЫ ОЧИЩЕННЫЕ (ППД) ДЛЯ ЖИВОТНЫХ ТУ. Purified tuberculins (PPD) for animals. Specifications, 24 с.
6. Прокопьева Н.И., Былгаева А.А., Обоева Н.А., Федотов И.Р./ Этиология туберкулиновых реакций у крупного рогатого скота //Сибирский вестник с.-х. науки. – 2007. – № 11. – С. 51-55.