

“ВИТИ БИОВЕТ” ТУБЕРКУЛИННИНГ ЛАБОРАТОРИЯ СИНОВЛАРИ

Эгамова Д. Х., Нематов С. А., Мамадуллаев Г. Х.

Ветеринария илмий тадқиқот институти

Аннотация: Лабораторные испытания ВИТИ-БИОВЕТ туберкулина.

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.

Кириш.

Республикамизда кишлоқ хўжалик ҳайвонлари орасида туберкулёзни тарқалишининг ўзига хос хусусиятларини ўрганиш, эмланган ва касалланган ҳайвонларда бир хил аллергия реакция намоён бўлиши, ППД туберкулин диагностикасининг ишлаб чиқилмаганлиги каби муаммолар ўз ечимини тўлиқ топгани йўқ. Айниқса, касаллик кўзгатувчисининг кишлоқ хўжалик, уй ва ёввойи ҳайвонлар ҳамда паррандаларга ва ҳатто инсон организмига миграция қилиши Ўзбекистон ҳудудида касаллик бўйича эпидемик ва эпизоотик ҳолатнинг мураккаблашувига олиб келиши мумкин. Шунинг учун Республикамизни туберкулёз эпизоотиясидан соғломлаштиришда муҳим аҳамиятга эга бўлган самарали диагностикум ва кимёвий-махсус воситалар комплексини яратиш ва уни такомиллаштириш ҳамда резистент туберкулёз штаммларига қарши маҳаллий хом ашёлардан фойдаланиб, янги туберкулоstaticлар комплексини яратиш борасида тадқиқотлар олиб бориш долзарб муаммо ҳисобланади.

Туберкулёз аллергияси - иммунологиянинг классик мисоли бўлсада, хусусан туберкулёз касаллигида аллергия масаласи тўлиқ ўрганилмаган ва мавҳум муаммо бўлиб келмоқда. Фанда туберкулёз аллергияси ҳақида ҳали маълумотлар кам, секин типда чақириладиган аллергия субстрати ҳозирча номаълум (1).

Туберкулёзга аллергия текширишининг моҳияти шундан иборатки, туберкулёз кўзгатувчиси ёки бошқа турдаги микобактериялар юққан ҳайвонларни туберкулин синамаси ёрдамида аниқлаш ҳисобланади (2).

Симультан текширишни қўллаш аллергия 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 сенсibiliзацияланганлигига 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 услублар. Туберкулин тайёрлаш учун 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 (суюқ синтетик) озиқа муҳитларидан фойдаланилди.

Туберкулин тайёрлаш учун *M. bovis* 8-03 штамми модификациялаштирилган Сотон озиқа муҳитида ўстирилди. 1 литр озиқа муҳитидан 600 мг -дан 13 гр. бактериал масса олиш мумкин. 45-60 кун давомида термостатда $+37^{\circ}\text{C}$ ҳароратда ўстирилган бактериал масса автоклавда стерилизация қилиниб фаолсизлантирилди, ишқорсизлантирилди, филтрланди ва қадоқланди.

Тадқиқотларнинг натижалари. Туберкулиннинг тажриба сериясини тайёрлаш учун дастлаб электив Левенштейн-Йенсен озиқа муҳитида ўстириб олинди. Штаммни матрли колбаларга экиш учун бактериал масса дастлаб қаттиқ озиқа 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. Экмалар 60-90 кун муддатгача сақланди. Экилган колбалар бир ҳафтада бир марта тафтиш қилиб борилди.

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

Культурал суюқликдан филтрат 50% ухлорсирка кислота ёрдамида чўктириш (4-5% гача пасайгунича) йўли орқали ажратилди (50 мл филтратга 0,1-0,2-0,3 мл). Сўнггра 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 оқ-қўнғир рангга эга бўлди. Кейинги босқичда туберкулин физиологик эритма ёрдамида фильтрация орқали ювиб олинди ва флаконларга қадоқланди.

ППД туберкулиннинг махсус фаоллигини аниқлаш учун альбинос соғлом, тирик вазни 350-400 гр бўлган денгиз чўчкачалари БЦЖ вакцинаси билан 1 мг дозада сон мускулига эмланди. Эмлангандан сўнг 30 кун ўтгач ППД туберкулин препаратининг махсус



фаоллигини аниқлаш учун денгиз чўчкаларининг қорин деворига ишлаб чиқилган ППД туберкулин диагностикаси инъекция қилинди. Назорат сифатида махсус фаоллиқни солиштириш учун Россия Федерациясининг ФГУП «Курск биофабрикаси»-да ишлаб чиқарилган «Туберкулин очищенный (ППД) для млекопитающих в стандартном разведении» диагностикасидан фойдаланилди.

Дастлаб 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 тайёрланади:

5 флакон туберкулин олинди ва аралаштирилгач ундан 1 мл (50000 ТБ) олинди ва 9 мл стерил физиологик эритмага солиб аралаштирилди (5000 ТБ). Ҳосил бўлган аралашмадан яна 1 мл олинди ва 4 мл физиологик эритма солинган идишга қуйилди (1000 ТБ). Тайёрланган эритма яна 1:10 нисбатда султирилди. Идишларда ҳар 1 мл эритмада 1000 ТБ ва 100 ТБ 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-нуктага тери орасига юборилди. Аллергенларни юбориш учун инъекция жойи - қорин девори териси жундан қўл ёрдамида юлиб олиниб тозаланди, 70⁰ спиртда дезинфекцияланди ва тажриба ҳамда назорат туберкулинлари инъекция қилинди. Инъекция қилинган денгиз чўчкалари фуксин бўёғида қуйидагича белгиланди: 1-чи денгиз чўчкаси бўёқсиз, 2-чи денгиз чўчкаси бошнинг орқа қисми, 3-чи денгиз чўчкаси орқа томони ва 4-чи денгиз чўчкаси дум қисми. Қолган денгиз чўчкалари ҳам шу тартибда фуксин бўёғида белгиланди. Тажриба ва назорат туберкулинлари юборилгандан сўнг 24 соат ўтгач туберкулинлар юборилган жойдаги тери қалинлиги - реакция натижаси ўлчанди. Бунинг учун инъекция жойида ҳосил бўлган папула контурлари ўлчами рангсиз целофан орқали чизиб олиниб, сўнгга қоғозга кўчирилди, аллергиялар ҳосил қилган папула ўлчамлари D₁, D₂ кўрсаткичлар олинди.(жадвал).

Денгиз чўчкалари терисида туберкулин ҳосил қилган папулалар ўлчами.

Денгиз чўчкаларининг шартли рақами ва бўёқ ўрни	1000 МЕ ва 100 МЕ дозада инъекция қилинган туберкулин дозалари ҳосил қилган папула ўлчами, мм			
	“ВИТИ-Биовет” туберкулин		«Курск»«Туберкулин очищенный (ППД)».	
	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



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-Биовет” ППД туберкулини 49000 ТБ махсус фаоллик кўрсаткичига эга бўлди. Бу кўрсаткич Ts–23516953-07:2015 ташкilot стандарти талабларига жавоб беради.

Жадвалдан кўриниб турибдики, ишлаб чиқарилган ППД туберкулин диагностиками етарли даражада махсус фаоллик кўрсатди ва Ташкilot стандартидаги (Ts) техник шартлар талабига жавоб бериши аниқланди. Мазкур диагностикам ёрдамида кишлок хўжалик ва ёввойи ҳайвонлар туберкулёзини аллергияк диагностикасида самарали қўллаш мумкинлиги ҳақида ҳулоса қилинди.

Фойдаланилган Адабиётлар Рўйхати.

1. Абдыраманова Т. Д. Выявляемость реагирующего на туберкулопротеин крупного рогатого скота и микобактериальная подтверждаемое реакций при лабораторных исследованиях в Челябинской области//Материалы международной конференции, посвященной 75-летию УГАВМ,- Троицк, 2005, С 121-123
2. 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.
3. Бойсинова, Н. Б., Ачилов, О. Э., & Исхакова, М. (2021). Обеспечение безопасности говядины в условиях продовольственного рынка Самарканда. Бойсинова, НБ Обеспечение безопасности говядины в условиях продовольственного рынка Самарканда/НБ Бойсинова, ОЭ Ачилов, М. Исхакова//Ветеринарная медицина в XXI веке: роль биотехнологий и цифровых технологий: материалы Международной научно-практической конференции студентов, магистрантов и молодых ученых (г. Витебск, г. Самарканд, 2 февраля 2021 г.)/Витебская государственная академия ветеринарной медицины, Самаркандский институт ветеринарной медицины.-Витебск: ВГАВМ, 2021.-С. 194-197..
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 условияГОСТ 32306-2013МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТТУБЕРКУЛИНЫ ОЧИЩЕННЫЕ (ППД) ДЛЯ ЖИВОТНЫХ ТУ. Purified tuberculins (PPD) for animals. Specifications, 24 с.
6. Ачилов, О. Э. (2018). ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ЭХИНОКОККОЗЕ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В САМАРКАНДЕ. ГЛОБАЛЬНАЯ НАУКА И ИННОВАЦИЯ 2021: ЦЕНТРАЛЬНАЯ АЗИЯ.





7. Кассич Ю.Я., Завгородный А. И. Определение активности туберкулина (ПЛД) для млекопитающих //Ветеринара Медицина № 84 Міжвідомчий тематичний науковий збірник / Харків 2004 С. 330-332.
8. 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.

