

УДК 619.616.61724.8.559.59

Г.Х. Мамадуллаев, А.Т.Тўхлиев., Ж.Н.Хўжамов, ЎзВИТИ.
А.С.Тўраев, Ш.А.Шомурадов, Ўз.ФА Биоорганик кимё институти.
З.Н.Асадов, Самарқанд тиббиёт институти

ТУБЕРКУЛЁЗ МИКОБАКТЕРИЯЛАРИГА ҚАРШИ “БИОМАЙРИН” ПРЕПАРАТИНИНГ АНТИБАКТЕРИАЛ ФАОЛЛИГИ

Аннотация

В статье приводятся результаты лабораторных испытаний нового противотуберкулёзного препарата «Биомайрин». Препарат испытан прямым и непрямым бактериологическими методами, а также на организме морских свинок заражённых микобактериями туберкулёза типа *M.bovis* № 8-03 и *M. Humanis* № 7598. Результаты опытов обобщены по данным бактериологических и патологоанатомических исследований и были подтверждены достаточной антимикробной эффективностью препарата «Биомайрин» против микобактерий туберкулёза (МБТ).

Ключевые слова: «Биомайрин», микобактерия, *M.bovis*, *M. Humanis*, бактериология, антимикроб, ингибция, фагоцит.

Туберкулёз – хозирги даврда хужайра ичида паразитлик қиладиган энг оғир касалликлар тоифасига киритилади. Касаллик бўйича эпидемиологик ва эпизоотологик носоғломлик икки сабабга бевосита боғлиқ. Биринчидан, касаллик кўзгатувчисининг хужайра ичидаги персистенцияси (ўрнашиши) ва кўпайиши, унинг хужайра ингибициясига (тўхтатиши) олиб келса, иккинчидан туберкулёзга қарши қўлланиладиган препаратларга нисбатан моно-, би- ва полирезистент штаммларнинг ортиб бораётганлиги ҳисобланади. Касалликка қарши қўлланиладиган барча синтетик препаратлар фагоцитлар ичида жойлашиб олган туберкулёз таёқчаларига тўлиқ таъсир қила олмайди ва қуйи бирикмали молекула бўлганлиги боис организмдан тезда ташқарига чиқиб кетади. Организмда, хусусан қонда препаратларнинг керакли микдорда саклиниб туриши учун баъзан тез-тез ва кўп микдорда дориворлар киритилиши аксарият ҳолларда оғир токсико-аллергик реакциялар келтириб чиқаради. Касалликка қарши қўлланилаётган препаратлар нафақат туберкулёз микобактерияларига, балки организмга ҳам ноҳўя таъсир кўрсатади, жумладан аллергия реакция бериши, моддалар алмашинуви, фермент тизимига таъсир кўрсатиши, баъзан дисбактериоз ҳам чақиритиши мумкин.

Шунинг учун хозирги даврда юкори самарадорликка эга бўлган туберкулёзга қарши янги дориворлар яратиш ва ишлаб чиқаришга тақдим этиш долзарб масала бўлиб турибди. Янги яратилаётган туберкулёзга қарши препаратлар илгари қўлланилаётганларига нисбатан тузилиши ва таъсир қилиш механизмига кўра, жумладан кўзгатувчининг биологик мембранасидан сизиб ўта олиши муҳим аҳамият касб этади. Ўзаро комбинацияли ва синергетик таъсир қилувчи янги препаратлар ишлаб чиқиш ва синовдан ўтказиш тадқиқотларимизнинг мақсади ҳисобланади. Бу борада Ўз.ФА Биоорганик кимё институти олимлари билан ҳамкорликда ишлаб чиқилган “Биомайрин” препаратининг туберкулёз кўзгатувчиларига нисбатан бактериостатик ва бактерицид таъсирини ҳамкорликда тадқиқ қилиш бўйича ўтказилган экспериментлар натижалари баён қилинмоқда.

“Биомайрин” – препарати тиббиёт амалиётида одамларни туберкулёздан даволашда кенг қўлланиладиган Гидразид изоникотин кислотаси – изониазид, этамбутол дигидрохлорид ва рифампицин антибиотики ҳамда модификацияланган полисахаридлар макромолекуласи – полигалактурон кислотаси билан кимёвий боғлаш орқали олинган пролонгацияланган ва комбинацияланган препарат махсулидан иборат.

Summary

The results of article is a laboratory researches of a new antituberculous preparation «Biomayrin». The preparation is tested direct and indirect by bacteriological methods and on an organism guinea pigs of common porpoises infected mycobacterium a tuberculosis of type *M.bovis* № 8-03 and *M. Humanis* № 7598.

Results of experiences are generalized according to bacteriological and path anatomical researches and was is reached sufficient antimicrobial efficiency of a preparation “Biomayrin” against mycobacterium a tuberculosis (MBT).

Key words: “Biomayrin”, mycobacteriya, *M.bovis*, *M. Humanis*, bacteriologiya, antimicrobial, ingibitsiya, fagotsit.

Тадқиқотларнинг материал ва услублари. Музей микобактерия штаммларини ўстириш ва саклаш, лабораторияда тажриба хайвонларидан олинган патологик намуналарни текшириш “Хайвонлар туберкулёзини олдини олиш ва қарши кураш” (Тошкент, 1998), “Хайвонлар туберкулёзининг диагностикаси” (Тошкент, 2011) бўйича йўриқномалари, “Туберкулёзда лаборатория диагностикаси” (Омск, 1988) кўрсатмаси, “Руководство по лабораторным исследованиям при туберкулезе” (М., 1973), ҳамда “Биологический метод исследований при туберкулезе” (Киргизстан, 1976) қўлланилган асосида ўтказилди.

“Биомайрин” препаратининг токсик таъсири ва безарлиги 10 дона тирик вазни 18-20 грамм бўлган соғлом оқ сичқонларда текширилди.

МБТ бовис 8-03 ва МБТ Хуманис №7598 штаммларига “Биомайрин” препаратининг билвосита ва бевосита таъсири бактериологик синовдан ўтказилди.

Билвосита услуб. Бунинг учун дастлаб текширилаётган препаратнинг 1,0 %-ли эритмаси стерил шароитда тайёрланди. Тайёрланган препаратнинг концентрациясида юкорида номланган штаммлар 30 минут, 1 ва 3 соат ҳамда 1 сутка давомида +37°C ҳароратда термостатда инкубацияда сакланди. Сўнгра Гон-Левенштейн-Сумиоши услубида ишлов берилиб, препарат қолдиқларидан тозаланди ва Левенштейн-Йенсен озика мухитига МБТ бовис 8-03 ва МБТ Хуманис №7598 штаммлари экилди. Назорат пробиркаларига ҳам (препаратсиз) ушбу штаммлар экилди.

Бевосита услуб. Текширилаётган препаратнинг 1,0 %-ли эритмаси стерил шароитда тайёрланди ва бевосита Левенштейн-Йенсен озика мухитига қўшиб, пробиркаларга қуйилди. Бунинг учун 100 мкг “Биомайрин” препарати кукуни 4 мл 96° спиртда эритиб олинди ва устидан 6 мл дистилланган сув қўшилди. Ҳосил бўлган 10 мл препарат эритмасига 90 мл суюқ ҳолатдаги Левенштейн-Йенсен озика мухити қўшилди. Тайёр бўлган озика мухити 5 мл дан 20 дона пробиркага қуйиб чиқилди. Пробирка оғзи марли тампон ёрдамида беркитилди, қопқоқ усти суюқ парафин билан ўралди ва +85°C ҳароратда 45 минут давомида махсус аппаратда сакланди. Тайёр бўлган озика мухити 2 сутка давомида +37°C ҳароратда термостатда инкубацияда сакланди (иккинчи усул). Сўнгра препарат қўшилган Левенштейн-Йенсен озика мухитига МБТ бовис 8-03 ва МБТ Хуманис №7598 штаммлари экилди.

Назорат сифатида МБТ бовис ва МБТ Хуманис штаммлари препарат қўшилмасдан озика мухитига соф ҳолда экилди. Кузатувлар 90 кун давом этди.

Бактериоскопик текшириш учун бокс шароитида микобактериялар штаммлари намуналарининг ҳар бирдан 2-4 донадан суртма тайёрланди. Суртмалар хона ҳароратида ҳавода ёки термостатда (+37°C) қуритилиб, спиртовка алангаси устида фиксация қилинган. Циль-Нильсен услубида бўялди. Бунинг учун суртма устига фильтр қоғози жойлаштирилди ва устидан фуксин Цильнинг карбол эритмаси предмет ойначасининг устини тўлик қоплагунча томизилди. Сўнгра суртма 5 минут давомида аланга устида буғ пайдо бўлгунга қадар 2-3 марта киздирилди. Бунда суртма устидаги бўёқ қайнаб кетмаслиги шарт. Суртма совутилиб, фильтр қоғози олиб ташланган, 3% хлорнордон спирт ёрдамида оч-қизғиш ранггача рангсизлан-тирилди. Сўнгра предмет ойначаси дистилланган сув ёрдамида ювиб олинди ва қуритилгач Леффлер метил кўк бўёғи билан 3-5 минут давомида бўялди. Бўёқ ювиб ташланиб, қуритилгач микроскоп остида 12x90 ва 12x100 катталиқда ўрганилди. Микобактерия таёқчаларининг морфологик хусусиятлари аниқланди.

Препаратнинг самарадорлигини биологик услубда текшириш учун тирик вазни 350-400 гр 14 бош денгиз чўчкаларидан фойдаланилди.

Биосиновдан олдин денгиз чўчкалари туберкулёзга аллергик текширилди. Аллергик текшириш учун денгиз чўчкаларига (қорин териси) 25 ТЕ дозада тери орасидан туберкулин препарати юборилди.

Реакция натижаси 48 соатдан сўнг қутиметр ёрдамида ўлчанди.

Биосиновда аллергик реакция бермаган хайвонлардан экспериментларда фойдаланилди.

Тажрибалар 90 кун давом этди ва кузатув муддати тугагач тажриба ва назорат гуруҳи хайвонлари мажбуран ўлдирилди ва патологоанатомик усулда текширилди. Тажриба хайвонлари ички-аъзоларидан олинган патологик намунага Гон-Левенштейн-Сумиоши услубида ишлов берилди. Бунинг учун патологик намуна махсус косачада эзиб янчилди ва устидан 6% олтингурт кислотаси 1:4 ҳажмда қуйилди (экспозицияси 15 минутгача) ва 10-15 минут давомида центрифуга (3000 айл/мин) қилингандан сўнг 0,85% физиологик эритмада патологик намуна ювиб олинди. Бу жараён 2-3 марта такорланди. Сўнгра тайёрланган патологик намуна суспензияси Левенштейн-Йенсен озика мухитига экилди, Циль-Нильсен услубида бўялди.

Левенштейн-Йенсен озика мухитига экилган суспензия дастлаб 2 сутка давомида термостатда (+37°C) пробиркалар ётқизилган ҳолатда сақланган, сўнгра вертикал ҳолатда 90 кунгача сақланди. Бу муддат ичида туберкулёз колониялари ўсиб чикди.

Тажриба хайвонларининг зарарланиш индекси (талок индекси) Р.Войтек (1967) усулида аниқланди:

$$TI = \frac{TB}{GB} \times 100 \%$$

ТИ-талок индекси

ТВ- талок вазни

ГВ- гавда вазни

Тадқиқот натижалари: “Биомайрин” препаратининг токсик таъсири ва безарарлигини текшириш учун 10 дона тирик вазни 18-20 грамм бўлган соғлом оқ сичконларга препарат 15,0 ва 30,0 мг/кг дозада қорин бўшлиғига 0,3 мл микдорда юборилди. Препаратнинг ҳар бир дозаси 5-тадан оқ сичконга юборилди. Препарат юборилгандан сўнг 10 кун давомида хайвонлар устида клиник кузатув олиб борилди. Кузатув давомида тажриба хайвонларининг организмида физиологик меъёрда ҳеч қандай ўзгариш кузатилмади ва улардан бирортаси ҳам ўлмади.

Тажриба муддати тугагандан сўнг барча хайвонлар патоморфологик текширишлар учун мажбурий ўлдирилди. Патологоанатомик ёрилган хайвонларнинг ички-аъзолари ва тўкималарида, хусусан ўпка, юрак, жигар, буйрақлар, талок, ошқозон-ичак тракти ва лимфа тугунларида ҳеч қандай патологик ўзгариш аниқланмади. Айрим хайвонларнинг ўпка, юрак ва ошқозон-ичак трактида қон қуйилиш ўчоқлари кузатил-

ди. Бу ўзгаришлар хайвон ўлдирилгандан сўнг ҳосил бўлган ўзгаришлар ҳисобланади.

Шундай қилиб, тажриба натижалари шуни кўрсатдики, Биомайрин препарати оқ сичконлар организмига 15,0 ва 30,0 мг/кг дозада ҳеч қандай номутаносиб ва токсик таъсир кўрсатмади.

МБТ бовис 8-03 ва МБТ Хуманис №7598 штаммларига Биомайрин препаратининг бевосита ва билвосита таъсири синовдан ўтказилди. Бунинг учун дастлаб текширилаётган препаратнинг 1,0 %-ли эритмаси стерил шароитда тайёрланди. Тайёрланган препарат концентрациясида юқорида номланган штаммлар 30 минут, 1 ва 3 соат ҳамда 1 сутка давомида+37°C ҳароратда термостатда инкубацияда сақланди ва сўнгра Гон-Левенштейн-Сумиоши услубида ишлов берилиб, Левенштейн-Йенсен озика мухитига экилди (биринчи билвосита усул).

Юқорида кўрсатилган препарат концентрацияси бевосита Левенштейн-Йенсен озика мухитига қўшиб тайёрланди ва пробиркаларга қуйиб чиқилди ва экмалар экилди (иккинчи усул). Назорат сифатида МБТ бовис 8-03 ва МБТ Хуманис №7598 штаммлари препарат қўшилмасдан озика мухитларига экилди.

Тадқиқотлар жараёнида олинган натижалар 1-чи жадвалда келтирилди.

Ҳар иккала усулда ҳам препарат билан ишлов берилгандан сўнг озика мухитларига экилган пробиркаларнинг бирортасида туберкулёз колониялари ўсмади. Назорат сифатида соф ҳолда экилган пробиркаларнинг барчасида МБТ колониялари ўсиб чикди ва қуйидаги тавсифга эга бўлди:

–Ўсиш тезлиги - ўртача 15-21 кунни ташкил этди;

–Колониялар тавсифи: ғадир-будир шаклли, юзаси бўртмасимон, куруқ, R-колония; якка-якка колония, лойкасимон; якка сонли, майда шудрингсимон ҳажмли, тўғри ва эгри шаклли, юзаси ғадир-будир, консистенцияси куруқ ва ёпишқоқ, фил суяги рангида пигментланган, суюлиш даражаси ўртача.

Консистенцияси –умаланадиган;

Кулранг-окиш крем рангли пигмент ҳосил қилган.

1-жадвал

Биомайрин препаратининг туберкулёз қўзғатувчилари колонияларига нисбатан бевосита ва билвосита бактерицид ва бактериостатик таъсири.

№	Штамм номи	Препарат қонц.	Инкубация даври	Натижа	№	Штамм номи	Препарат қонц.	Инкубация даври	Натижа
1	Bovis-№ 8-03 билвосита таъсир	1,0	30 мин. 1 соат 3 соат 1 сутка	-	4	Humanis № 7598 билвосита таъсир	1,0	30 мин. 1 соат 3 соат 1 сутка	-
2	Bovis-№ 8-03 бевосита таъсир	1,0		-	5	Humanis № 7598 бевосита таъсир	1,0		-
3	Bovis № 8-03	Назорат		+	6	Humanis № 7598	Назорат		+

Эслатма: - МБТ колонияси ўсмади

+ МБТ колонияси ўсди

1-жадвалдан кўришиб турибдики, Bovis-№ 8-03 ва Humanis № 7598 штаммларига “Биомайрин” препарати бевосита ва билвосита ижобий бактерицид ва бактериостатик таъсир кўрсатди. Ҳар иккала усулда ҳам препарат билан ишлов берилгандан сўнг Левенштейн-Йенсен озика мухитларига экилган туберкулёз колониялари бирорта ҳам пробиркада ўсмади. Соф ҳолда экилган назоратдаги штаммлар эса озика мухитида ҳосилдор ўсиш самарадорлигини берди.

(Давоми келгуси сонда)