

УДК 619.616.61724.8.559.59

Г.Х.Мамадуллаев, А.Т. Рахимов,  
Ветеринария илмий-тадқиқот институти

## ППД ТУБЕРКУЛИН ДИАГНОСТИКУМИНИНГ БИОЛОГИК ПАРАМЕТРЛАРИ

### Аннотация

В статье приводятся результаты лабораторных испытаний экспериментальной серии ППД туберкулин дианостикума разработанного в лаборатории по изучению туберкулёза НИИВ.

По результатам исследований препарат ППД туберкулин является стерильным, нетоксичным, безвредным, ареактогенным и не оказал сенсибилизирующего действия на организм лабораторных животных.

**Ключевые слова:** туберкулёз, штамм, микобактерия, МБТ, бовис, хуманис, аллергия, ППД туберкулин, ТБ, туберкулинизация, патанатомия, бактериология, стерильность, безвредность, сенсибилизация, реактогенность, специфическая активность.

### Summary

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

According to the research, drug PPD tuberculin is a sterile, non-toxic, harmless, non-reactive and did not have a sensitizing effect on the body of laboratory animals.

**Key words:** tuberculosis, strain, mycobacterium, MBT, M.bovis, M. humans, allergy, PPD tuberculin, TB, tuberculinization, pathological anatomy, bacteriological, sterile, harmless, sensitization, reactogenicity, special activity.

Қишлоқ хўжалик хайвонлари туберкулёзига қарши кураш - ташкилий-хўжалик, ветеринария-санитария чораларини амалга ошириш асосан ППД туберкулин препарати ёрдамида аллергия диагностика қилишга таянган. Туберкулин препарати 98 % гача касаллик юққан хайвонни аниқлаш имконини беради. Мазкур препарат республикамизда ишлаб чиқарилмади ва қатга сарфхаражат, вақт ва меҳнат ҳисобига чет давлатлардан, асосан Россиядан сотиб олинади. Бир йилда мамлакатимиз чорвачилигида қорамолларни бир марта туберкулинизация қилиш учун қамиди 10 млн доза туберкулин дианостикуми керак бўлади.

Қонунга мувофиқ хўжаликлардаги туберкулёз бўйича эпизоотик вазиятга қўра, бир йилда соғлом фермалар 1 марта, хайвон маҳсулотлари реализация қилувчи фермалар 2 марта, қорамоллар туберкулёзи бўйича носоғлом фермалар 6 мартагача ППД туберкулин ёрдамида аллергия текширилиши лозим. Шунинг учун республикамизда маҳаллий захиралардан фойдаланиб, туберкулин препаратини ишлаб чиқариш технологиясини яратиш ва республика ветеринария хизматида жорий этиш муҳим аҳамиятга эга.

Хайвонлар туберкулёз касаллигида организмда секин типдаги юқори сезувчанлик ҳосил бўлади ва бу жараён туберкулин препарати ёрдамида аниқланади. Туберкулин ибораси кўп сонли липопротеидлар ва углеводлар мажмуини ўз ичига олган туберкулёз микобактерияларнинг культурал филтратларидан ёки микроб таначаларидан тайёрланади.

Туберкулин препарати илк бор 1890 йилда немис олими Р. Кох томонидан тайёрланган ва тиббиётга тадқиқ этилган. Шу даврдан бошлаб бу препаратни тадқиқ қилиш кўплаб ривожланган давлатлар олимлари томонидан ўрганиб келинмоқда.

Туберкулин тайёрлашнинг дастлабки даврларида (XX аср) глицеринли гўшт пептон бульонида 5-8 ҳафта давомида ўстирилган, иссиқ бугда қиздирилган ва филтратланган, +70° С ҳароратда 1:10 нисбатгача суяк қисми буғланган олинган.

Туберкулиннинг диагностика қиймати унинг физико-химий хусусиятларига ҳамда кўп жиҳатдан препаратнинг қандай савияда тайёрланганлиги ва тозаланганли-

гига боғлиқ. Туберкулин таркибида юқори даражадаги маҳсус субстанция бўлиши билан бир қаторда, унда микроорганизмда сенсибилизация чақирадиган субстрат бўлмастлигини ҳам тақозо қилади.

Одам (M.Humanis) ёки қорамол (M.bovis) турларидан тайёрланган препаратнинг қайси бири маҳсусроқ ва туберкулингенерок эканлиги ҳақида ҳозирча қанда аниқ бир хулосага келинмаган. Аммо қорамол туридан тайёрланган препаратнинг M.Humanis туридан тайёрланган туберкулинга нисбатан маҳсуслиги бир мунча юқорироқ бўлиши ҳақида кўплаб далиллар мавжуд. Масалан, Европа давлатларида препарат тайёрлаш учун асосан қорамол туридан фойдаланилади ва унинг маҳсус фаоллиги юқорироқ эканлиги эътироф этилган.

1971 йилдан бошлаб туберкулин препарати икки хуманис ва бир қорамол туридан ишлаб чиқарилган.

ВГНКИ (А.Шаров ва бошқ.) ва ВИЭВ (Н.П.Овдиенко, А.Х.Найманов ва бошқ.) олимлари томонидан ҳар иккала тур штаммларидан туберкулин препарати тайёрланиб, кенг қўламда синовдан ўтказилди. Натижада қорамол туридан тайёрланган препарат M.Humanis турининг ўзидан ва M.bovis - M.Humanis турларидан биргаликда тайёрланган препаратга нисбатан ўзининг тозаланганлиги ва маҳсус фаоллиги юқори эканлигини кўрсатди. Шунинг учун 1982 йилдан бошлаб препаратни бовис моноштаммларидан саноат миқёсида ишлаб чиқариш йўлга қўйилди.

Бу жабада туберкулинни стандартлаштириш долзарб муаммо бўлиб қолмоқда.

Ҳозирда стандартлаштириш мезони синалаётган препаратнинг эталон биологик фаоллиги тери синамаларига асосланган бўлиб, бунда нафақат препаратнинг, балки организмнинг сенсибилизацияланганлиги ва маҳсус аллергия жавоб реакциясига ҳам боғлиқлигини эътироф этиш зарур.

Ҳар қандай туберкулин бир неча хил биокимёвий моддалар: протеинлар, пептидлар, полисахаридлар, нуклеин кислоталар ва липидлардан иборат. Шундан оксил 73-90 %, полисахаридлар 4-5 %, нуклеин кислоталар 1-2% ва липидлар 11 % ни ташкил қилади.

Кўплаб ривожланган давлатларда туберкулёз дианостикаси учун ўз миллий туберкулин препаратига эга ва у чет давлатларга экспорт қилинади.

Шунинг учун мазкур диагностикаумни республика-мизда ишлаб чиқариш Давлат маблағини тежаш имкони-ни беради.

**Тадқиқотларнинг материал ва услублари.** Туберкулин ишлаб чиқариш учун туберкулёзнинг қорамол тури штамми қаттиқ тухумли ёки картошкали сунъий электив озука мухитларига кўчириб экиб бориш йўли билан сақланди. Штамм экилган ва озука мухитларида етиштирилган колониялар хужайраларнинг типик, культурал ва тинкториал хусусиятлари, озука мухитидаги ўсиш тавсифи текшириб борилди. Шу билан бир қаторда штаммнинг вирулентлиги, туберкулиногенлиги, ифлосланмаганлиги ва колониянинг ўсиш маҳсулдорлиги назорат қилинди. Туберкулёз микобактерияларини эталон ва эпизоотик *M. Mumpis* ва *M. bovis* штаммларининг культурал-морфологик, тинкториал ва бошқа хусусиятлари солиштирма равишда ўрганилди. Культурал услуб билан колонияларнинг ўсиш тезлиги ва ҳосилдорлиги аниқланди. Бунинг учун электив ва селектив тухум картошкали Левенштейн-Йенсен, Гелберг ёки Сотон (суяк синтетик) ва 4-5% глицеринли МПБ озука мухитларидан фойдаланилди. Микобактерияларнинг морфологияси сараланган штаммларнинг Циль-Нильсен услубида бўйланган суртмаларида ўрганилди.

Колонияларнинг ўсиш тезлиги 4 балли тизимда баҳоланади: 1-плюс, яқка колониялар; 2-плюс, 20-100 дона колония; 3-плюс 100-200 колония ва 4-плюс сон-саноксиз колония.

Туберкулёз микобактерияси штаммларининг дифференциацияси метил кўк бўёғини рангсизлантириш, пигмент ҳосил қилиш, ҳар хил ҳароратда ўсиш тезлигини ўрганиш, лаборатория хайвонлари учун патогенлиги ва бошқа хусусиятлари орқали ўрганилди. Бу вазифани бажариш учун штаммлар электив ва селектив озука мухитларига матрли колбаларга экилди.

Туберкулин тайёрлаш учун бовис штамми аспарагин ва лимон кислотали модификациялаштирилган Сотон озука мухитидан фойдаланилди. Бу озука мухити самарали ўсиш ҳосилдорлиги (1 литр озукадан 600 мг дан 13 гр бактериял масса) беради. Бундай мухитда штамм 8 генерацияга қадар диссоциацияга учрамайди. 2 ой давомида термостатда +37°С ҳароратда ўстирилган бактериал масса автоклавда стерилизация қилиб фаолсизлантирилди, ишқорсизлантирилди, филтёрланди ва кадоқланди.

Тайёрланган туберкулин препарати лаборатория хайвонлари организми учун безарар бўлиши ҳамда токсик, реактоген ва сенсибилизациялаш хусусияти бўлмаслиги керак.

**Тадқиқотларнинг натижалари.** Экспериментал туберкулин сериясини тайёрлаш учун дастлаб электив ва селектив тухум картошкали Левенштейн-Йенсен, 4-5% глицеринли МПА ва МПБ озука мухитларида микобактерияларнинг морфологияси сараланган штамм Циль-Нильсен услубида бўйланган суртмаларида ўрганилди.

МБТ штаммини матрли колбаларга экиш учун бактериал масса дастлаб қаттиқ озука мухитларида 9-12 кун давомида ўстириб олинди.

Матрли колбаларга экилган МБТ штамми озука мухити юзасида дастлаб юпқа нозик пленка ҳосил қилиб ўсди. Кейинчалик бу пленка аста-секин қалинлашиб, бурасимон кўринишга эга бўлди. Инкубация охирида озука мухити юзасида қалинлашган ажинсимон кўриниш, ок-кўнғир рангга эга бўлди. Озука мухитининг ранги

тиниклигича қолди, баъзан тўқ сарик ёки тўқ кўнғир рангга кирди. Колонияларнинг ўсиш ҳосилдорлиги 2-3 плус (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 °С ҳароратда 10 дақиқа давомида фаолсизлантирилди. Сўнгра  $t = +4^{\circ}\text{C}$  ҳароратда 2 haftaгача совутгичда сақланди.

Культурал суяқликдан филтёрлат 50% уч хлор сирка кислота ёрдамида чўктириш (4-5% гача пасайгунича) йўли орқали ажратилди (50 мл филтёрлатга 0,1-0,2-0,3 мл). Сўнг оксил преципитати центрифуга ёрдамида ажратиб олинди. Олинган масса сувда ювиб олинди (диализ) ва яна олтингургорт нордон аммоний эритмаси ёрдамида чўктирилди. Тўқ кўнғир рангли чўктирилган филтёрлат ва устки пленка қисми ажратиб олинди, яхшилаб аралаштирилиб (3 минг айл.мин), 10-15 минут давомида центрифуга қилинди ва чўкма ажратиб олинди. Ҳосил бўлган тўқ кўнғир рангли туберкулин спиртда (96°) 1:3 нисбатда 3 марта центрифуга ёрдамида ювиб олинди ва оч-кўнғир рангга эга бўлди. Кейинги босқичда туберкулин физиологик эритма ёрдамида филтёррация орқали ювиб олинди ва флаконларга кадоқланди.

Тайёрланган туберкулиннинг куйидаги биологик параметрлари текширилди.

**Туберкулиннинг стериллиги.** Туберкулиннинг стериллиги сунъий электив гўшт-пептон агар (5-6 см<sup>2</sup>) ва гўшт пептон бульонли (100 см<sup>2</sup>) озука мухитларига 3 тадан намунага 1-1,5 см<sup>2</sup> миқдорда экилди ва термостатда (+37-38°С) 10 кун давомида инкубацияда сақланди. Инкубация даврида тайёрланган туберкулиннинг стериллиги аниқланди. озука мухитларида ёт микрофлора ривожланмади (1-жадвал).

1-жадвал.

Туберкулиннинг стериллиги

№	Озука мухити номи	Мухит миқдори, мл	Намуна миқдори, мл	Намуна сони	Инкубация даври	Стериллиги
1	Гўшт пептон агар	5-6	1-1,5 мл	3	10	Микрофлора ривожланмади
2	Гўшт пептон бульон	100	1-1,5 мл	3	10	Микрофлора ривожланмади

1-жадвалдан кўриниб турибдики, озука мухитларига экилган туберкулин намуналари стерил экан.

**Туберкулиннинг токсик таъсири.** Тайёрланган туберкулиннинг токсик таъсири 3 бош денгиз чўчкасида синовдан ўтказилди. Бунинг учун денгиз чўчкаларига 1,0 мл туберкулин эритмаси тери остидан юборилди ва 10 кун давомида кузатувда сақланди. 10 кун кузатув даврида денгиз чўчкалари организмида ҳеч қандай клиник ўзгариш кузатилмади (2-жадвал).

**Туберкулиннинг безарарлиги.** Туберкулиннинг безарарлигини аниқлаш учун 3 бош денгиз чўчкасида

2-жадвал.

Туберкулиннинг токсик таъсири

№	Ҳайвон тури	Бош сони	Препарат миқдори	Кузатув муддати	Натижа
1	Денгиз чўчкаси	3	1,0	10	Токсик таъсир йўқ

**Туберкулиннинг безарарлиги**

№	Хайвон тури	Бош сони	Препарат миқдори, мл	Кузатув муддати, кун	Патолого-анатомик текшириш	Культурал текшириш	Натижа
1	Денгиз чўчкаси	3	1,0	42-45	Ўзгариш йўқ	Колония ўсмади	Безарар

синов ўтказилди. Бунинг учун тайёрланган туберкулиндан 5,0 мл олинди ва 2500 ай.л.мин тезликда 25 дақиқа центрифуга қилинди. Центрифугатнинг юқори қисми олиб ташланди ва чўкмадан 1,0 мл олинди, 3 бош денгиз чўчкасига тери остидан юборилди. Препарат юборилган хайвонлар 42-45 кун кузатувда сақланди. Кузатув муддати тугагач, денгиз чўчкалари патологоанатомик ёрилди ва ички аъзолари текширилди. Текшириш натижасида хайвонлар ички аъзоларида ҳеч қандай патологик ўзгариш кузатилмади. Патологик намунага Гон усулида ишлов берилди ва Гельберг озука муҳитига экилди. 45-60 кун кузатув муддатида озука муҳитида микроорганизмлар ўсмади (3-жадвал).

**Туберкулиннинг реактогенлиги.** Туберкулиннинг реактогенлиги 3 бош тирек вазни 400-500 гр альбинос

**Туберкулиннинг реактогенлиги**

№	Хайвон тури	Аллерген тури	Бош сони	Иньекция усули	Препарат миқдори	Кузатув муддати, соат	Натижа
1	Денгиз чўчкаси	Текшири-лаётган туберкулин	3	Тери орасига	500 ТБ 0,1 мл	24	ареактоген
2	Денгиз чўчкаси	Назорат туберкулини	3	Тери орасига	500 ТБ 0,1 мл	24	ареактоген

денгиз чўчкаларида текширилди. Бунинг учун денгиз чўчкаларининг қорин девори икки томонидан териси жунидан лезвия ёрдамида қириб олинади ёки туқларини юлиб ташлаб ҳам тозалаш мумкин. Инъекция жойининг 1 нуқтасига текширилаётган туберкулин 500 ТБ 0,1 мл, иккинчи нуқтасига шу дозада назорат туберкулини тери орасига юборилади. Реакция натижаси 24 соатдан сўнг текширилди. Текширишларда туберкулин юборилган жойда ҳеч қандай реакция кузатилмади (4-жадвал).

**Туберкулиннинг сенсбилизациялаш хусусияти.** Туберкулиннинг сенсбилизациялаш хусусияти илгари ҳеч қандай тажрибаларда фойдаланилмаган, соғлом, ти-

**Туберкулиннинг сенсбилизациялаш хусусияти**

№	Хайвон тури	Аллерген тури	Бош сони	Иньекция усули	Препарат миқдори	Иньекция сони	Текшириш натижаси
1	Денгиз чўчкаси тажриба	Текшири-лаётган туберкулин	3	Тери орасига	500 ТБ 0,1 мл	3 марта	Реакция йўқ
2	Денгиз чўчкаси, назорат	Назорат туберкулини	3	Тери орасига	500 ТБ 0,1 мл	1 марта	Реакция йўқ

рик вазни 400-500 гр 6 бош альбинос денгиз чўчкаларида текширилди. Бунинг учун денгиз чўчкаларидан 3 бошига 0,1 мл 500 ТБ дозада тери орасидан туберкулин препа-

**3-жадвал.** рати ҳар 5 кун оралиғи билан 3 марта қорин деворидан тери орасига юборилди. Қолган 3 бош хайвонга назорат сифатида препарат юборилмади. Барча денгиз чўчкалари бир қафасда сақланди. Охириги инъекциядан сўнг 15 кун ўтгач, тажриба ва назоратдаги хайвонларга юқорида таъкидланган усулда туберкулин юборилди. Реакция натижаси 24 соатдан сўнг текширилди ва инъекция жойида ҳеч қандай реакция йўқлиги аниқланди. Бу туберкулин диагностикамининг сенсбилизациялаш хусусияти йўқлигини билдирди (5-жадвал).

5-жадвал натижасига кўра, текширилаётган ППД туберкулин сенсбилизациялаш хусусиятига эга эмас экан.

ППД туберкулин диагностикамининг махсус фаоллигини лаборатория ва ишлаб чиқариш шароитида синовдан ўтказиш бўйича тадқиқотлар натижалари журналнинг кейинги саҳифаларда баён қилинади.

**Хулоса.**

1. ППД туберкулин диагностиками учун керакли штамм сараланди.

2. Диагностикам тайёрлашнинг технологик регламенти тузилди ва тажриба микросериялари ишлаб чиқарилди.

3. Тайёрланган ППД туберкулиннинг стериллиги, безарарлиги, токсик хусусияти йўқлиги, денгиз чўчкалари организмни сенсбилизациялаш хусусияти ва реактогенлиги аниқланди.

**4-жадвал.**

**Фойдаланилган адабиётлар рўйхати:**

1. Басыбеков С.Д. О неспецифических туберкулиновых реакциях у крупного рогатого скота в хозяйствах Южного Казахстана // Роль ветеринарной науки в развитии животноводства / матер. Межд. Науч. Произв. Конф. КазНИВИ. Алматы 2000., С. 68-70.

2. Букова, Н.К. Питательная среда ВКГ для ускоренного выращивания микобактерий. //Ветеринарная патология. - 2004. № 1-2 (9). - С. 107-110.

3. Ветеринария қонунчилиги //Хайвонлар туберкулёзига қарши кураш чора тадбирлари ҳақида қўлланма, Тошкент 1998. – Б. 68.

4. Ерошенко, Л.А. Использование стандартных сред для выращивания микобактерий // Матер. Всерос. науч. конф. по проблемам хронических инфекций. Омск, 2001. - С. 161— 163.

5. Зубехина Л.И., Зубехин А.В., Информативность аллергических реакций на введение туберкулина и симулянтной пробы реагирующим животным // Роль вет.науки в разв. жив-ва / Матер. Межд. Науч. Произв. Конф. КазНИВИ. Алматы 2000. С. 108-109.

**5-жадвал.**

6. Ибраев А.О., Керимжанова Б.Ф. Неспецифические реакции на туберкулин для млекопитающих у крупного рогатого скота в Акмолинской области // Роль вет.науки в разв. жив-ва / Матер. Межд. Науч. Произв. Конф. КазНИВИ. Алматы 2000. С. 110-112.

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