

ППД ТУБЕРКУЛИН ДИАГНОСТИКУМИНИНГ МАХСУС ФАОЛЛИГИ

Аннотация

В статье приводятся результаты лабораторных испытаний экспериментальной серии ППД туберкулин диагностикума разработанного в ООО "Биоветпродукт" совместно с лабораторией по изучению туберкулёза НИИВ.

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

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

Мавзунинг долзарблиги. Туберкулёз сурункали кечадиган юқумли касаллик бўлиб, 55 турдан ортик кишлок хўжалик хайвонлари, ёввойи хайвонлар ва мўйнали хайвонлар ҳамда 25 турдаги паррандаларда учрайди. Касалликка чалинган ички аъзо ва тўкималарда махсус тугунлар – бўртмачалар (туберкулалар) ҳосил бўлади. Туберкулёз одамлар орасида ҳам кенг тарқалган касалликдир [6, 7].

Ветеринария амалиётида туберкулёз юққан хайвонларни аниқлаш учун туберкулин препарати ёрдамида аллергия туберкулинизация услуби қўлланилади. Туберкулин препаратини хайвонга юборишнинг бир неча хил усуллари мавжуд. Жаҳон амалиётида тери орасига юбориш услубидан кенг фойдаланилади. Бу услуб сезгир, ишончли бўлиб, осон бажарилиши, оддийлиги ва тезлиги каби афзалликлари оммавий текширишларда кенг қўлланилишига сабаб бўлади. Аммо, туберкулинодиагностикада ўзига хос муаммолар мавжуд [2, 8].

Туберкулёзга аллергия текширишнинг моҳияти туберкулёз кўзгатувчиси ёки бошқа турдаги микобактериялар юққан, сенсibilизацияланган хайвонларни туберкулин синамаси ёрдамида аниқлаш ҳисобланади. Тирик организмга микобактериялар юққан вазиятда организмда секин типдаги гиперсезувчанлик (СТГ) ҳосил бўлади [8].

Қорамоллар туберкулёзига қарши курашиш ташкилий-хўжалик, ветеринария-санитария чораларини амалга оширишдан иборат. Бундай тадбирларнинг бирламчи асосини ППД туберкулин препарати ёрдамида аллергия диагностика қилиш ташкил қилади [2]. Туберкулин препарати 98 % гача касаллик юққан хайвонни аниқлаш имконини беради. Мазкур препарат республикамізда ишлаб чиқарилмайди ва катта сарф харажат, вақт ва меҳнат эвазига чет давлатлардан, асосан Россия Федерациясидан сотиб олинади.

Республикаміз чорвачилигида 11 млн дан ортик қорамол бўлиб, уларни йилда бир марта туберкули-

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 PPD tuberculin drug has sufficient specific activity. In experiments on guinea pigs sensitized with BCG, the activity of tuberculin was 49000 TE.

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

низация қилиш учун камида 11 млн. доза туберкулин диагностикуми керак бўлади. 1 доза сотиб олинadиган туберкулин ўртача 250-350 сўм баҳоланади. "Ветеринария тўғрисида"ги қонунга мувофиқ хўжаликлардаги туберкулёз бўйича эпизоотик вазиятга кўра, бир йилда соғлом фермалар 1 марта, хайвон маҳсулотларини реализация қилувчи фермалар 2 марта, қорамоллар туберкулёзи бўйича носоғлом фермалар 6 мартагача ППД туберкулин ёрдамида аллергия текширилиши лозим [2,8].

Шунинг учун республикамізда маҳаллий захира-лардан фойдаланиб, ўз миллий туберкулин препара-тини ишлаб чиқариш технологиясини яратиш ва ветеринария хизматига жорий этиш муҳим аҳамият касб этади.

Ҳозирги замонда препаратнинг эталон биологик фаоллиги тери синамаларига асосланган бўлиб, бунда нафақат препаратнинг, балки организмнинг сенсibilизацияланганлиги (СТГ) ва махсус аллергия жавоб реакциясига ҳам боғлиқ [4].

Туберкулин – протеинлар, пептидлар, полисахаридлар, нуклеин кислоталар ва липидлардан иборат. Шундан оқсил 73-90 %, полисахаридлар 4-5 %, нуклеин кислоталар 1-2 % ва липидлар 11 % ни ташкил қилади [1, 4].

2004 йилда аллергия диагностик текшириш режасини бажариш учун Украинадан қўшимча 115 литр (1150000 доза) туберкулин препарати олиб келинди. Келтирилган препаратнинг жавоб назорати Республика Давлат Ветеринария Бош Бошқармасининг топшириғига мувофиқ Ветеринария илмий-тадқиқот институти ва Ветеринария препаратларини назорат қилиш Давлат илмий лабораториясига юклатилди.

Препаратнинг махсус фаоллиги ВИТИ туберкулёз-ни ўрганиш лабораториясида ва ишлаб чиқариш шаро-итида Қорақалпоғистон Республикасида қорамоллар туберкулёзи бўйича носоғлом хўжаликларда синов-дан ўтказилди ва мазкур импорт препарати амалдаги Техник Шартлар талабига жавоб бериши аниқланди. Бу тадбирлар ўз навбатида маълум миқдорда вақт, меҳнат, сарф харажатлар ва бошқа муаммолар билан бевосита боғлиқ.

Шунинг учун мазкур диагностикаумни республикамизда ишлаб чиқариш давлат маблагини тежаш имконини беради.

Тадқиқотларнинг материал ва услублари. Туберкулин ишлаб чиқариш учун *M.bovis*-8-03 штаммидан фойдаланилди. Штамм қаттиқ тухумли сунъий электив озика муҳитларига кўчириб экиб бориш йўли билан кўпайтирилди. Туберкулин тайёрлаш учун *M.bovis*-8-03 штамми аспарагин ва лимон кислотали модификациялаштирилган Сотон озика муҳитидан фойдаланилди [1, 3]. Бу озика муҳити самарали ўсишни таъминлайди. 1 литр озикадан 600 мг дан ортик туберкулопротеин ва 13 гр бактериал масса олиш мумкин. Бундай муҳитда штамм 8 генерацияга қадар диссоциацияга учрамайди. 45-60 кун давомида термостатда +37° С ҳароратда ўстирилган бактериал масса автоклавда стерилизация қилиб фаолсизлантирилди. Культурал суюқликдан бактериал масса центрифуга орқали ажратиб олинди. Олинган бактериал масса сувда эритилди ва қайта олтингугурт нордон аммоний эритмаси ёрдамида чўктирилди. Водопровод сувида туз ва бошқа хил кўшимчалардан ювиб тозаланди. 10% аммиак эритмасида ишқорсизлантирилди, филтрланди ва қадокланди.

Тайёрланган туберкулин препарати қуйидаги физикавий ва биологик параметрлар талабига жавоб бериши шарт:

ташки кўриниши – тиниқ рангсиз ёки тиниқ кўнгир;

водород ионлари концентрацияси – (РН) - Рн 7,0 ± 0,5;

оксил миқдори – (0,8 ± 0,2) мг/см³;

натрий хлор миқдори – (0,85 ± 0,05) %;

фенол миқдори – (0,3 ± 0,1) %;

глицерин миқдори – (10,0 ± 1,0) %.

Шунингдек, препарат ± 50000 ТБ махсус фаолликка эга бўлиши керак.

Тадқиқот натижалари. 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. БЦЖ вакцина штамми 16 кун давомида Левенштейн-Йенсен озика муҳитида ўстириб олинди ва эмлаш учун фойдаланилди.

Эмлангандан сўнг 30 кун ўтгач ППД туберкулин препаратининг махсус фаоллигини аниқлаш учун денгиз чўчкаларининг қорин деворига инъекция қилинди.

Назорат сифатида махсус фаоллиқни солиштириш учун Россия Федерациясининг ФГУП «Курск биофабрикаси» да (23.11.2014 йил) ишлаб чиқарилган «Туберкулин очищенный (ППД) для млекопитающих в стандартном разведении» (Серия 5, Назорат 5) диагностикаумидан фойдаланилди.

Дастлаб ишлаб чиқариладиган ва назорат туберкулинининг 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: 5 флакон туберкулин олинди, аралаштирилгач, ундан 1 мл олинди ва 9 мл стерил физиологик эритмага солиб аралаштирилди. Ҳосил бўлган аралашмадан яна 1 мл олинди ва 4 мл физиологик эритма солинган идишга қуйилди. Ҳосил бўлган эритма яна 1:10 нис-

батда суюлтирилди. Идишларда ҳар 1 мл эритмада 1000 МЕ ва 100 МЕ титрли туберкулин ҳосил бўлди. Назоратдаги 3 ва 4-эритмалар концентрацияси ҳам шу усулда тайёрланди.

Тажриба ва назорат туберкулинлари денгиз чўчкалари қорин деворининг икки ён томонидан 4-нуқтага тери орасига юборилди. Инъекция жойидаги жун бармоқлар ёрдамида юлиб тозаланди ва 70° спиртда дезинфекцияланди. Инъекция қилинган денгиз чўчкалари бўёқда белгиланди (бўёксиз, бош қисми, орқа томони ва дум қисми).

Тажриба ва назорат туберкулинлари юборилгандан сўнг 24 соат ўтгач, реакция натижаси ўлчанди. Бунинг учун инъекция жойида ҳосил бўлган папула контурлари ўлчами рангсиз целлофан пленка орқали чизиб олинди, сўнг қоғозга кўчириб олинди (1-жадвал).

1-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-продукт туберкулин (08.05.2015)		«Курск» «Туберкулин очищенный (ППД)». Серия 5, 23.11.2014	
	1000 МЕ/мл	100 МЕ/мл	1000 МЕ/мл	100 МЕ/мл
1 бўёксиз	21	8	20	11
2 бош	24	8	23	12
3 орқа	16	9	16	8
4 дум	17	10	22	13
5 бўёксиз	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 қуйидаги формула ёрдамида ҳисобланди:

$$A = (d_1 + d_2) \times 50000$$

A – махсус фаоллик кўрсаткичи,

D₁ – тажриба туберкулини ҳосил қилган папула ўлчами,

D₂ – назорат туберкулини ҳосил қилган папула ўлчами,

50000 - 1 см³ эритмадаги асосий ТБ (туберкулин бирлиги) миқдори.

Олинган махсус фаоллик кўрсаткичлари формулага қўйилгач, тажрибадаги туберкулин препаратининг махсус фаоллик кўрсаткичи аниқланди.

$$D_1 = 205 + 98 = 303$$

$$D_2 = 204 + 107 = 311$$

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

Текшириш натижасига кўра, ВИТИ-Биовет-продукт ППД туберкулини 49000 ТБ махсус фаоллик кўрсаткичига эга бўлди. Бу кўрсаткич Ts-23516953-07:2015 ташкилот стандарти талабларига жавоб беради.

Амалдаги йўриқномага мувофиқ туберкулёз лаборатория диагностикасида қўлланиладиган 25 ТБ ППД туберкулин диагностикасининг махсус фаоллиги лаборатория шароитида денгиз чўчкаларига жорий этилди. Тирик вазни 400 гр 5 дона альбинос денгиз чўчкалари БЦЖ вакцинаси билан эмланди.

Бунинг учун термостатда +37°C ҳароратда 14-19 кун давомида Левенштейн-Йенсен озиқа муҳитида ўстирилган БЦЖ штаммидан тайёрланган суспензия хайвонларга сон мускули ичига 1,0 мг 1,0 мл. микдорда эмланди.

Сенсибилизацияланган денгиз чўчкалари эмлангандан сўнг 30 кун ўтгач, ишлаб чиқарилган ППД туберкулин препаратининг тажриба саноат серияси махсус фаоллиги диагностика сифатини аниқлаш мақсадида текширилди.

Назорат сифатида Россия Федерациясининг ФГУП «Курск биофабрикаси»да (23.11.2014 йил) ишлаб чиқарилган «Туберкулин очищенный (ППД) для млекопитающих в стандартном разведении» (Серия 5, Назорат 5) диагностикамидан фойдаланилди.

Ҳар иккала ППД туберкулин диагностиками «Хайвонлар туберкулёзининг диагностикаси» Йўриқномасига мувофиқ қуйидагича тайёрланди: асосий туберкулин эритмасидан 1 мл олинди ва 9,0 мл физиологик эритмаси бўлган флаконга қуйилди. Флакон яхшилаб чайқалтирилди ва ундан 0,5 мл олиниб, 9,5 мл физиологик эритмаси бўлган бошқа флаконга қуйилди ва 0,1 мл 25 ТЕ туберкулин эритмаси ҳосил бўлди [5].

Туберкулин текширишдан олдин 3 флакондан 1 мл дан олинди ва бошқа стерил флаконга қуйиб, аралаштирилгач, текшириш учун фойдаланилди.

Тажриба ва назорат туберкулинлари денгиз чўчкаларининг қорин деворига чап (Россия) ва ўнг (ВИТИ «Биоветпродукт») томонидан икки нуктага 0,1 мл 25 ТЕ дозада қорин териси орасига юборилди ва натижа 24 соатдан сўнг ўлчанди (2-жадвал). Туберкулин инъекцияси жойидаги тери дастлаб жундан тозаланди ва 70° спиртда дезинфекцияланди.

2-жадвал.

ППД туберкулин диагностикасининг денгиз чўчкаларига жорий этиш натижаси

№	Хайвон тури	ВИТИ-Биоветпродукт туберкулини юборилган жойдаги папула диаметри, мм	Курск туберкулини юборилган жойдаги папула диаметри, мм
1	Денгиз чўчкаси	17	15
2	- // -	10	8
3	- // -	12	11
4	- // -	8	8
5	- // -	11	4

Жадвал натижасидан кўриниб турибдики, ҳар иккала ППД туберкулин диагностикамига ҳам БЦЖ вакцинаси билан сенсибилизацияланган денгиз чўчкалари терисида 0,1 мл 25 ТЕ диагностика дозага аллергик реакция гиперемияланган папула кўринишида аниқланди.



Расм.

ППД туберкулинларга денгиз чўчкалари терисида 0,1 мл 25 ТЕ дозага нисбатан тери реакцияси

ХУЛОСАЛАР

1. Туберкулёз микобактерияси штаммларидан диагностика учун М. Bovis 8-03 штамм танланди.
2. Туберкулин препаратини тайёрлашнинг технологик регламенти ишлаб чиқилди. Ts 23516953-07^2015.
3. Ишлаб чиқарилган ППД туберкулин диагностиками денгиз чўчкалари организмида 49000 ТБ махсус фаоллик даражасини кўрсатди.
4. БЦЖ вакцинаси билан сенсибилизацияланган денгиз чўчкалари терисида 0,1 мл 25 ТЕ диагностика дозага гиперемияланган папула кўринишида аллергик реакция ҳосил бўлди.

Фойдаланилган адабиётлар рўйхати

1. Букова, Н.К. Питательная среда ВКГ для ускоренного выращивания микобактерий. //Ветеринарная патология.- 2004. № 1-2 (9). - С. 107-110.
2. Ветеринария қонунчилиги //Хайвонлар туберкулёзига қарши кураш чора-тадбирлари ҳақида қўлланма, Тошкент, 1998. – Б. 68.
3. Ерошенко. Л.А.. Использование стандартных сред для выращивания микобактерий // Матер. Всерос. науч. конф. по проблемам хронических инфекций. Омск, 2001. - С. 161-163.
4. Кассич Ю.Я., Завгородный А. И. Определение активности туберкулина (ППД) для млекопитающих // Ветеринара Медицина № 84 Міжвідомчий теметичний науковий збірник / Харків 2004 С. 330-332.
5. Рекомендация по лабораторной диагностике туберкулёза. Омск, 1988.-64 с.
6. Туберкулёз животных и меры борьбы с ним / Под.ред.Ю.Я.Кассич.-Киев:Урожай, 1990.-303 с.
7. Туберкулёз сельскохозяйственных животных / Под.ред. В.П. Шишкова и В.П. Урбана. –М.: ВО Агропромиздат, 1991. -246 с.
8. «Хайвонлар туберкулёзининг диагностикаси» бўйича Йўриқнома/ Тошкент, 2011 й. 30-бет.
9. «Хайвонлар туберкулёзини олдини олиш ва қарши кураш ҳақида» Йўриқнома /Тошкент, 1998, 16-бет.