

Мазкур мақола мулоҳаза тарзида чоп этилмоқда.

УДК 619.616.61724.8.559.59

Г.Х. Мамадуллаев, А.Т. Тўхшев, ВИТИ,
А.С. Тўраев, Ш.А. Шомуратов, ЎзФА Биоорганик кимё институти,
З.Н.Асадов, Самарканд тиббиёт институти талабаси

ЛАБОРАТОРИЯ ҲАЙВОНЛАРИНИНГ ЭКСПЕРИМЕНТАЛ ТУБЕРКУЛЁЗИДА “БИОМАЙРИН” ПРЕПАРАТИНИНГ ДАВОЛАШ САМАРАДОРЛИГИ

Аннотация

В статье приводятся результаты лабораторных испытаний нового противотуберкулёзного препарата «Биомайрин» в организме экспериментально зараженных морских свинок и кроликов.

Установлено, что препарат «Биомайрин» в организме опытных морских свинок в дозе 20 мг/кг и у кроликов в дозе 4 мл – 10 % обладает достаточной антимикробной активностью против микобактерий туберкулёза бычьего вида.

Калит сўзлар: туберкулёз, денгиз чўчкалари, патологик намуналар, бактериологик текшириш.

Мавзунинг долзарблиги. Жаҳон соғлиқни сақлаш ташкилотининг (ЖССТ) маълумотларига кўра, дунё бўйича 1 йилда 10 млн одам туберкулёз билан касалланмоқда, 1 кунда 8000 киши, 1 йилда 3 млн одам ушбу касалликдан нобуд бўлмоқда. Ер шари аҳолисининг учдан бир қисми туберкулёз таъқчалари билан зарарланган. Бундай аянчли кўрсаткич туберкулёз эпидемиологияси ва эпизоотологиясига, даволаш ва қарши курашишда янги стратегия ёндашишга ундайди [1, 3].

Сўнгги йилларда туберкулёзни даволаш учун қўлланиладиган дориворларга нисбатан резистент штаммларнинг пайдо бўлиши, ривожланиши ва тарқалиши муаммони янада мураккаблаштирамоқда. Штаммларнинг резистентлик даражаси турли давлатларда турлича [2, 4].

Бундай муаммоларни ечими борасида ЎзФА Биоорганик кимё институти ва ВИТИ туберкулёзни ўрганиш лабораторияси олимлари ҳамкорлигида туберкулёзга қарши полимер асосли “Биомайрин” препарати ишлаб чиқилди. Ушбу препарат бўйича бактериологик “in vitro” синовлари ҳақидаги маълумот журналнинг ўтган сонларида берилган эди. Мазкур мақолада “Биомайрин” препаратининг лаборатория ҳайвонлари организмидан “in vivo” синовлари тўғрисида баён қилинади.

Тадқиқотларнинг ҳажми, материал ва усуллари. Тадқиқотлар Ветеринария Бош бошқармаси томонидан тасдиқланган “Ҳайвонлар туберкулёзини олдини олиш ва қарши курашиш” йўриқномаси ва кўрсатмаларига (М.1982, 1988 йй., “Ҳайвонлар туберкулёзининг” (Тошкент. 1998, 2011 йй.) йўриқномасига биноан ўтказилди [5, 7, 8, 9].

“Биомайрин” препаратининг туберкулёз штаммига қарши махсус таъсир самарадорлигини аниқлаш учун соғлом, тирик вазни 350-400 гр 18 бош денгиз чўчкалари ва тирик вазни 3-4 кг бўлган 7 бош қуёнларда тажриба ўтказилди.

Summary

The article presents the results of laboratory tests of a new anti-TB drug «biomayrin» in the organism of experimentally infected guinea pigs and rabbits. It is obtained that the preparation «biomayrin» in organism of guinea pigs at 20 mg/kg dose and in organism of rabbits at 4 ml–10 % dose has sufficient antimicrobial activity against mycobacterium a tuberculosis of type M.bovis.

Тажриба ҳайвонларини юктиришдан олдин ППД туберкулин препарати билан туберкулёзга аллергия усулда текширилди. Бунинг учун Россия Федерациясининг ФГУП «Курск биофабрикаси» да 2011 йилда ишлаб чиқарилган «Туберкулин очищенный (ППД) для млекопитающих в стандартном разведении» (Серия 6, Назорат 6) диагностикамидан фойдаланилди.

Денгиз чўчкаларига ППД туберкулин 0,1 мл 25 ТЕ дозада қорин териси орасига юборилди ва 48 соатдан сўнг текширилди. Текшириш натижасида тажриба ҳайвонларида аллергия реакция аниқланмади.

Микобактериал штаммлар 18-21 кун давомида термостатда +37°С ҳароратда Гельберг озуқа муҳитида ўстирилди ва ҳосил бўлган бактериал массадан юктириш учун суспензия тайёрланди. Юктирилгандан сўнг 15-20 кунни ўтгач тажриба ҳайвонларига туберкулоз статик – Биомайрин препарати 3 ой давомида қўлланилди.

Таъкидлаш лозимки, “Биомайрин” препарати таркибида Изониазид препарати 1:3 нисбатда олинган.

Тажриба муддати тугагандан сўнг мажбурий сўйилган ҳайвонлар патолого-анатомик текширилди, ички аъзоларидан олинган патологик намунага Гон-Левенштейн-Сумиоши услубида ишлов берилди, Левенштейн-Йенсен ва Гельберг озуқа муҳитларига экилди, Цил-Нильсен услубида бўялди ва микроскопия қилинди.

Патологик намуналарни бактериологик текшириш ҳам 3 ой муддат давом этди.

Тажриба ҳайвонларининг зарарланиш индекси (талок индекси) Р.Войтек (1967) усулида аниқланди [1]:

$ТИ = (ТВ \times 100 \%) : ГВ$

ТИ-талок индекси,

ТВ- талок вазни,

100 – коэффициент,

ГВ- гавда вазни.

«Биомайрин» препаратининг туберкулёз қўзғатувчиларига қарши денгиз чўчкалари организмида паст ва юқори дозаларда *in vivo* синовлари схемаси

гурух №	Хайвон тури	Хайвон сони	Штамм номи	Юктириш дозаси мг/кг	Препарат дозаси мг	юбориш усули	қўллаш интервали
1	денгиз чўчкаси	3	Bovis-8-03	0,03	5	Биомайрин Per os	24 соатда 1 марта
2	денгиз чўчкаси	3	Bovis-8-03	0,03	10	Биомайрин Per os	24 соатда 1 марта
3	денгиз чўчкаси	3	Bovis-8-03	0,03	15	Биомайрин Per os	24 соатда 1 марта
4	денгиз чўчкаси	3	Bovis-8-03	0,03	20	Биомайрин Per os	24 соатда 1 марта
5	денгиз чўчкаси	3	Bovis-8-03	0,03	10	Изониазид Per os	24 соатда 1 марта
6	денгиз чўчкаси	3	Назорат-Bovis-8-03	0,03	-	-	-

«Биомайрин» препаратининг туберкулёз штаммларига қарши махсус таъсир самарадорлигини аниқлаш мақсадида 4 бошдан иборат тажриба ва 3 бошдан иборат назорат гуруҳидаги қуёнларга Bovis 8-03 штамми билан 0,03 мг/кг дозада қулоқ венасидан юктирилди. юктиришдан олдин хайвонлар ППД туберкулин препарати билан туберкулёзга аллергик усулда текширилди. Бунинг учун «Курск биофабрикаси»да 31.07.2013 йилда ишлаб чиқарилган «Туберкулин очищенный (ППД) для млекопитающих в стандартном разведении» Серия 14 диагностикумидан фойдаланилди.

ППД туберкулин 0,1 мл 250 ТЕ дозада қулоқ суприси териси орасига юборилди ва натижа 48 соатдан сўнг текширилди. Текшириш натижасида тажриба хайвонларида аллергенга ижобий реакция аниқланмади.

3 ойлик тажриба муддати тугагач хайвонлар патологоанатомик ёриб текширилди. Патологик намуналар бактериологик усулда текширилди ва препаратнинг туберкулёз қўзғатувчиларига нисбатан таъсир килиш фаоллиги аниқланди.

Тадқиқотларнинг натижалари. «Биомайрин» препарати паст ва юқори дозаларда туберкулёз қўзғатувчиларига қарши денгиз чўчкалари организмида *in vivo* синовлари учун 18 бош денгиз чўчкалари вирулент туберкулёз микобактерияларининг М. бовис-8-03 штамми билан сон териси остидан 0,03 мг/кг дозада юктирилди. Юктирилгандан сўнг 5 кун ўтгач I-IV тажриба гуруҳидаги денгиз чўчкаларига «Биомайрин» Препаратининг дистилланган сувдаги эритмаси 90 кун давомида оғиз бўшлиғи орқали қўлланилди.

«Биомайрин» препаратининг турли дозаларда туберкулёз қўзғатувчиларига таъсир механизмини солиштириш учун V гуруҳдаги 3 бош денгиз чўчкаларига М. бовис-8-03 штамми юктирилгандан сўнг Изониазид (ГИНК) препарати қўлланилди. VI – назорат гуруҳига юктирилгандан сўнг препарат берилмади.

Тажриба муддати тугагандан сўнг барча тажриба хайвонлари мажбурий ўлдирилди ва патологоанатомик текширилди. Патологоанатомик ёрилган тажриба хайвонлари ички-аъзоларида қуйидаги ўзгаришлар аниқланди:

5 мг/кг препарат қабул қилган I гуруҳ денгиз чўчкалари патологоанатомик ёрилганда ўпка, жигар, талок ҳажми кенгайган, қирраларида нуктасимон оқ-қулранг некротик ўчоқлар ҳосил бўлган. Юрак, буйраклар ва ошқозон ичак трактида патологик ўзгариш аниқланмади. Зарарланиш (жароҳат) индекси 1,05 %.

II гуруҳ денгиз чўчкаларида патологик ўзгаришлар жигар ва талокда кузатилди, аъзолар ҳажми бир оз кенгайган. Паренхимада нуктасимон ўчоқлар ҳосил бўлган.



1-расм.

Юктирилгандан сўнг «Биомайрин» препарати қабул қилган денгиз чўчкаларининг ички аъзолари

Кўндаланг кесимида бириктирувчи тўқимасимон капсула аниқланди. Юктириш жойида капсулаланган йирингли ўчоқ аниқланди. Зарарланиш (жароҳат) индекси 1,0 %

III гуруҳда юктириш жойида 2-3 мм ўлчамда капсулаланган йирингли ўчоқ топилди. Қолган ички аъзолари ва тўқималарида патологик ўзгаришлар аниқланмади. Бир бош хайвонда талок бир оз кенгайган, юзаси бўртмасимон. Кўндаланг кесимда консистенцияси бўшагачан, тўқима бир оз кўчади. Зарарланиш (жароҳат) индекси 0,2 %.

IV гуруҳда 1 бош хайвонда жигар бир оз кенгайган, ранги, консистенцияси ўзгармаган. Талок юзаси бўртмасимон, кўндаланг кесими ўзгаришсиз. Юктириш жойида 2-3 мм ўлчамда қаттиқ капсулаланган ўчоқ ҳосил бўлган. Зарарланиш индекси 0,2 %.

V гуруҳдаги МБТ Bovis-8-03 штамми юктирилгандан сўнг изониазид препаратини қабул қилган денгиз чўчкалари патологоанатомик ёрилганда қуйидагилар аниқланди: 1-хайвонда ўпка, юрак, талоқ, буйраклар ва ошқозон-ичак трактида ҳеч қандай патологик ўзгаришлар кузатилмади. Жигар тўқ қизил рангда, ҳажми, зичлиги ўзгармаган, оқ-сарғиш рангли тарик дони ўлчамида 1-2 дона некроз ўчоқлари ҳосил бўлган.

2-хайвон ўпкаси ҳажми кенгайган, чап бўлма ва бўлмачаси геморрагик яллиғланган, тарик дони ўлчамида бир дона қаттиклашган ўчоқ ҳосил бўлган, кўндаланг кесимида бириктирувчи тўқима аниқланди. Қолган ички аъзолари ва лимфа тугунларида патологик жараён аниқланмади.

3-хайвон ўпкасида нўхат дони ўлчамида геморрагия ҳосил бўлган. Жигар ҳажми бир оз кенгайган, мош дони ўлчамида некроз ҳосил бўлган. Талоқ ҳажми бир оз кенгайган, қолган ички аъзо ва тўқималарида патологик ўзгаришлар аниқланмади (1-расм).

VI назорат гуруҳидаги МБТ Bovis-8-03 штамми билан юктирилган ва препарат берилмаган 3 бош денгиз чўчкалари патологоанатомик ёрилганда қуйидаги патологик ўзгаришлар аниқланди: ўпка ҳажми 3 баробар кенгайган, паренхимасида 3-6 мм ўлчамда қулранг некротик казеозли ўчоқлар диффуз тарқалган. Жигар ҳажми 2 баробар кенгайган, тўқ қизил рангда, некроз ўчоқлари паренхиме бўйлаб тарқалган, казеоз масса ҳосил бўлган. Талоқ ҳажми кенгайган, тўқ-қизил рангда, юзаси ғадир-будир некроз ўчоқлари тарқалган. Буйраклар ва ошқозон-ичак трактида патологик жараён кузатилмади. Зарарланиш индекси 3,4 %.

Тажриба ва назорат гуруҳлари ички аъзоларидан кейинги бактериологик текширишлар учун керакли патологик материал намуналари олинди. Олинган патологик материалларни бактериологик текширишларда 1-2 ва назорат гуруҳи хайвонлари ички аъзолари намуналарида туберкулёз қўзғатувчиларининг колониялари озун муҳитларида ўсиб чиқди.

Шундай қилиб, денгиз чўчкаларида ўтказилган тажриба натижасидан кўриниб турибдики, М. Bovis 8-03 штамми билан юктирилгандан сўнг 20 мг/кг дозада “Биомайрин” препарати қабул қилган денгиз чўчкаларининг ички аъзоларида туберкулёз ривож-

ланмади (1-расм). 10 мг/кг дан паст дозада организмда нисбатан касаллик ривожланди (2-расм).



2-расм.

М. Bovis 8-03 юктирилган назоратдаги денгиз чўчкалари ички-аъзолари

“Биомайрин” препарати 20 мг/кг дозада М. Bovis 8-03 штаммига қарши фаол бактериостатик ва бактерицид таъсир кўрсатди. Препарат қабул қилмаган М. Bovis 8-03 штамми билан юктирилган 3 бош назорат гуруҳи хайвонлари ички аъзоларида туберкулёзнинг ривожланган шакли намоён бўлди (2-жадвал).

“Биомайрин” препаратининг туберкулёз штаммларига қарши махсус таъсир самарадорлигини аниқлаш мақсадида 7 бош қуён Bovis 8-03 штамми билан 0,03 мг/кг дозада қулоқ венасидан юктирилди. Bovis 8-03 штамми 16-18 кун давомида термостатда +37°C ҳароратда Левенштейн-Йенсен озун муҳитида ўстирилди ва ҳосил бўлган бактериал массада юктириш учун суспензия тайёрланди.

Барча тажриба хайвонлари вирулент туберкулёз микобактерияларининг М. Bovis 8-03 штамми билан қулоқ венаси орқали 0,03 мг/кг дозада юктирилди. Юктирилгандан сўнг 17 кун ўтгач, барча тажриба гуруҳидаги қуёнларга ҳар 24 соат оралиги билан дисцилланган сувда эритилган 4 мл 10% “Биомайрин” препарати оғиз бўшлиғи орқали 90 кун давомида ичириб борилди. Назорат гуруҳига препарат берилмади. 3 ойлик тажриба муддати тугагач, хайвонлар патологоанатомик ёриб текширилди. Патологик намуналар бактериологик усулда текширилди ва препаратнинг туберкулёз қўзғатувчиларига нисбатан таъсир қилиш фаоллиги аниқланди.

2-жадвал.

Тажриба хайвонларининг зарарланиш индекси

гуруҳ т.р.	хайвон тури	бош сони	Преп. Дозаси мг/кг	штамм номи	зараланиш (талоқ) индекси %
1	денгиз чўчкаси	3	5	Bovis 8-03	1,05
2	денгиз чўчкаси	3	10	Bovis 8-03	1,0
3	денгиз чўчкаси	3	15	Bovis-8-03	0,2
4	денгиз чўчкаси	3	20	Bovis 8-03	0,2
5	денгиз чўчкаси		10	Bovis 8-03	0,2
6	денгиз чўчкаси		назорат	Bovis 8-03	3,4

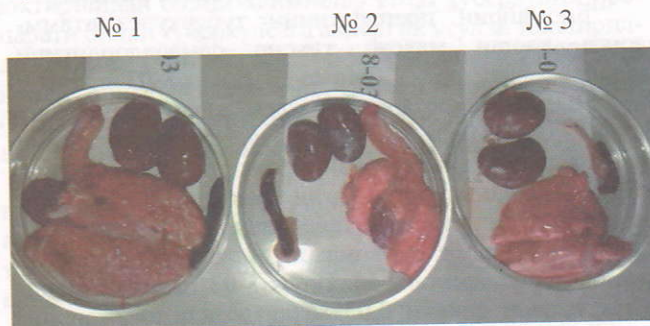
Патологоанатомик ёрилган тажриба ҳайвонлари ички аъзоларида қуйидаги ўзгаришлар аниқланди:

4 бошдан иборат I гуруҳ М. Bovis-8-03 штамми юктирилгандан сўнг “Биомайрин” препарати қабул қилган қуёнлар патологоанатомик ёрилганда қуйидагилар аниқланди: қуёнларнинг семизлиги ўртадан юқори, буйрак атрофи ёғ тўқимаси билан қопланган. 1-қуён ўпкасида қисман нуктасимон қон қуйилишлар ҳосил бўлган, оқ ва қулрангда. Жигар, юрак, талок, буйраклар ва ошқозон ичак трактида ҳеч қандай патологик ўзгариш аниқланмади.

2- ва 3-қуёнларнинг ички аъзоларида ҳам ҳеч қандай патологик ўзгариш аниқланмади, фақат жигар паренхимаси ранги ва зичлигида бир оз ўзгариш кузатилди.

4-қуённинг ички аъзоларида ҳеч қандай патологик ўзгариш аниқланмади.

II назорат сифатида М. Bovis 8-03 штамми юктирилган ва препарат қабул қилмаган қуёнлар ички аъзоларида туберкулёзнинг ривожланган генерализация шакли кузатилди. Ўпка паренхимаси туберкулёзга ҳос казеоз некроз ўчоқлар билан тўлиқ бузилган. Жигар, талок ва буйраклар ҳажми кенгайган, туберкулёзга ҳос некроз ўчоқлар билан диффуз бузилган, кўндаланг кесимида казеоз масса аниқланди (3-расм).



3-расм.

М. Bovis 8-03 штамми юктирилгандан сўнг “Биомайрин” препарати қабул қилган тажриба (2- ва 3-рақамли Петри идиши) ва назорат (1-Петри идиши) гуруҳларидаги қуёнлар ички аъзолари

Бир бош қуён тажрибанинг 65 кунини нобуд бўлди. Патологоанатомик ёриб кўрилганда қуён ички аъзоларида туберкулёзнинг ривожланган шакли ҳосил бўлганлиги кузатилди.

Шундай қилиб, қуёнларда ўтказилган тажриба натижасидан кўриниб турибдики, М. Bovis 8-03 штамми билан юктирилгандан сўнг 10% ли дозада “Биомайрин” препаратини қабул қилган қуёнлар ички аъзоларида туберкулёз ривожланмади. 4 мл 10% препарат дозаси М. бовис 8-03 штаммига қарши фаол бактерицид таъсир кўрсатди.

Тажриба ва назорат гуруҳлари ҳайвонларининг ички аъзоларидан кейинги бактериологик текширишлар учун керакли патологик материал намуналари олинди ва қолган ички аъзо ҳамда ҳайвонлар гавдаси махсус ўчоқда ёкиб юборилди.

Тажриба ва назорат гуруҳлари ҳайвонлари ички аъзоларидан олинган патологик намуналарга Гон-

Левенштейн-Сумиоши услубида ишлов берилди ва Левенштейн-Йенсен озуқа муҳитига пробиркаларга патологик намуна суспензияси экилди. Бактериологик текшириш натижалари патологоанатомик текшириш натижаларини тасдиқлади. Касаллик ривожланган тажриба ҳайвонлари ички аъзолари намуналарида туберкулёз колониялари озуқа муҳити юзасида ўсиб чикди.

Шундай қилиб, қуёнларда ўтказилган тажриба натижасидан кўриниб турибдики, М. Bovis 8-03 штамми билан юктирилгандан сўнг 4 мл 10% дозада “Биомайрин” препаратини қабул қилган қуёнлар ички аъзоларида туберкулёз ривожланмади. 10% препарат дозаси Bovis 8-03 штаммига қарши фаол бактерицид таъсир кўрсатди.

Таъкидлаш жоизки, 10 ва 20% препарат концен-трацияларида препаратнинг касалликдан даволаш самарадорлиги тажриба ҳайвонларининг тур тафовути ва индивидуал резистентлигига бевосита боғлиқ.

Хулосалар:

1. М. Bovis 8-03 штамми билан юктирилгандан сўнг юқори дозада 20 мг/кг “Биомайрин” препаратини қабул қилган лаборатория ҳайвонлари ички аъзоларида туберкулёз ривожланмади.

2. 20 мг/кг дозада “Биомайрин” препарати туберкулёз кўзгатувчиларига қарши кучли бактерицид таъсирга эга.

3. 10 мг/кг дан паст дозада лаборатория ҳайвонлари организмидан нисбатан касаллик ривожланди ва бу резистент штамм ҳосил бўлишига замин яратиши мумкин.

4. “Биомайрин” препаратининг 10% дозаси қуёнлар организмидан М. Bovis 8-03 штаммига қарши фаол бактерицид таъсир кўрсатди.

Фойдаланилган адабиётлар рўйхати

1. Войтек В. Противотуберкулёзная вакцинация в Чехословацкой Социалистической Республике // Проблемы туберкулёза. - 1963. - № 4. - С. 6-9.
2. Гарифуллин З.Р. // Материалы юбилейной сессии, посвященной 80-летию ЦНИИТ РАМН, 75-летию со дня рождения акад. РАМН А.Г. Хоменко. — М., 2001. — С. 113.
3. Донченко Н.А. Усовершенствование средств и методов диагностики и профилактики туберкулеза крупного рогатого скота // Автореф. дис. докт. вет. наук. - Новосибирск 2008. с 36.
4. Лечение туберкулеза: рекомендации для национальных программ. - ВОЗ - Женева, 1998. - Пер. с англ. 77.
5. Овдиенко Н.П., Найманов А.Х., Смолянинов Ю.И. и др. Бактериологическая диагностика туберкулеза животных // Ветеринария №12. 2006. С.3-5.
6. Рекомендация по лабораторной диагностике туберкулёза. Омск, 1988. - 64 с.
7. Рекомендации по лечению резистентных форм туберкулеза. - ВОЗ. - Женева, 1998. - Пер. с англ. 47.
8. “Ҳайвонлар туберкулёзининг диагностикаси” бўйича йўриқнома. Тошкент, 2011 30бет.
9. «Ҳайвонлар туберкулёзини олдини олиш ва қарши кураш» йўриқномаси (Тошкент, 1998 й.) 68 бет.
10. Яценко Т.Н., Мечева И.С. Руководство по лабораторным исследованиям при туберкулезе. — М.: Медицина, 1973. С. 53-77.