

УДК 619.616.615.724.8.559.59

ИЗУЧЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА «ЦЕЛАЗОН» ОТНОСИТЕЛЬНО ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ТУБЕРКУЛЁЗА

Мамадуллаев Г.Х., Мавланов С.И.

Узбекский научно-исследовательский институт ветеринарии, г. Самарканд

Сарымсаков А.А., Гафуров Д.Р.

Институт химии и физики полимеров Академии Наук Республики Узбекистан, г. Ташкент

В настоящее время туберкулёз представляет большую угрозу человечеству. По данным Всемирной организации здравоохранения ежегодно в мире болеют туберкулезом 8 млн. человек, из которых более 3 млн. погибают. По этой причине, туберкулёз отнесен к числу глобальных социально-значимых заболеваний [9].

В последние 15 лет существует проблема моно- и полирезистентности штаммов микобактерий туберкулёза *Mycobacterium tuberculosis* по отношению к различным лекарственным препаратам, что приводит к трудностям при лекарственной терапии туберкулёза [4].

Длительное применение бактериальных препаратов, а также комбинации туберкулёза с ВИЧ инфекцией могут приводить к осложнениям [7].

Причина распространения туберкулёза в большей степени связана с возрастанием резистентности и мультирезистентности штаммов микобактерий к одному или нескольким лекарственным средствам (изониазид, рифампицин). Такая картина в последние годы наблюдается в США, Великобритании и ряде других Европейских стран [8].

На основании сполитотипизации 138 изолятов микобактерий, выделенных в Самарской обл. России установлено их отношении к 27 группам, из которых 94 штамма (68,1 %) отнесено к одной группе и является кластером Пекинского сполитотипа на основании использования коммерческой линии INNO-LiPA установлено что, из 134 штаммов 78 (58,2 %) относятся к продуктам мутации ЧРО-В генов. На основании MBT - Пекин устойчивый к препарату рифампицин, 65 (83,3 %) из 90 MBT подвержен мутации в гене ЧРО-И. Эти показатели особо выражаются в штаммах, выделенных от людей лечащихся в стационарных условиях [1].

В связи с вышеизложенным, создание нового поколения лекарственных средств против возбудителей туберкулёза является актуальной проблемой современной медицины и ветеринарии. В данном направлении при сотрудничестве ученых Узбекского научно-исследовательского института ветеринарии и Института химии и физики полимеров Академии Наук Узбекистана создана новая оригинальная полимерная форма противотуберкулезного препарата, способствующая воздействовать на моно- и полирезистентные штаммы, а также снижены их отрицательные воздействия на организм. На основе известного противотуберкулезного препарата - гидразида изоникотиновой кислоты (изониазид), широко используемого в настоящее время при лечении туберкулёза, создан его полимерный аналог на основе водорастворимого производного целлюлозы - На КМЦ, способствующий снижению отрицательного воздействия активного начала изониазида на организм вследствие удлинения терапевтических сроков его воздействия, уменьшению применяемых доз.

Для химического присоединения изониазида к полимеру использован метод перйодатного окисления На КМЦ, в результате чего получены производные На КМЦ содержащие 20-40 моль % альдегидных групп. При взаимодействии активного производного На КМЦ с изониазидом получена полимерная модификация изониазида, имеющая азометиновую химическую связь с На КМЦ. Полимерная модификация изониазида содержала 7-8 % химически связанного изониазида, активно воздействующего на возбудители туберкулеза. Терапевтическая доза химически связанного изониазида воздействовала на возбудителей туберкулеза в течении 48-72 часов. В результате чего сроки приема лекарства сократились от 3 раз в день до одного раза в 2-3 дня. Данное преимущество достигнуто вследствие постепенного разложения полимера носителя с выделением активного изониазида. Целью настоящей работы было установление эффективности препарата при *in vivo* и *in vitro* экспериментах.

Материалы и методы. Полимерная модификация изониазида - целазон была исследована на предмет ее действия на штаммы MBT Bows и MBT *Humanis*. Для этого были приготовлены 0,5; 1,0 и 2 % стерильные растворы препарата. На приготовленных концентрациях раствора изониазида в течении определенного времени были культивированы М. Bows и М. *Humanis*, которые далее обрабатывались методом Гон-Левенштейн-Сумиоши и были посеяны на питательную среду Гельберга (прямой метод). При непрямом методе проводили пересев предварительно выделенных культур микобактерий туберкулёза на среды, содержащие лекарственный препарат. В качестве контроля использовали штаммы MBT Bows и MBT *Humanis* в питательной среде не содержащей целазон. Наблюдения проводилось в течении 90 дней [5,6].

Для предварительных аллергических исследований, морским свинкам подкожно был введен препарат туберкулин в дозе 25 ТЕ. Результаты реакции были учтены через 48 часов при помощи кутиметра. Для экспериментов использовались животные не реагирующие на аллерген. Через 14 дней после заражения животные ежедневно получали препарат и наблюдались в течение 3-х месяцев. Во время наблюдений патологический материал от павших животных подвергался бактериоскопическим и культурально-морфологическим исследованиям [2,3].

Результаты исследований. Результаты определения антибактериальной активности препарата Целозан бактериологическим методом приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Антибактериальная активности препарата Целозан

№	Название штамма	Конц, препарата %	Срок инкубации	Результат	№	Название штамма	Конц, препарата, %	Срок инкубации	Результат
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Прямой метод					Непрямой метод				
1	МБТ <i>Humanis</i> № 2520, МБТ <i>Bovis</i> 149	0,5	30 мин. 1 час 3 часа 24 часа	-	1	МБТ <i>Humanis</i> №2015, МБТ <i>Bovis</i> 149	0,5	0	

Роздш 5. Контролювання якості/, випробування, стандартизація/, сертифікація, маркетинг і провайдінг ветеринарних імунобіологічних препаратів

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Б	МБТ Humanis № 2520, МБТ Bovis 149	1.0	30 мин. 1 час 3 часа 24 часа		2	МБТ Humanis №2015, МБТ Bovis 149	1.0	0	
3	МБТ Humanis № 2520, МБТ Bovis 149	2.0	30 мин. 1 час 3 часа 24 часа		3	МБТ Humanis № 2015, МБТ Bovis 149	2.0	0	
4	МБТ Humanis № 2520, МБТ Bovis 149	Контроль ная	-	+	4	МБТ Humanis № 2015, МБТ Bows 149	Контроль ная		+

Примечание: - (минус) отсутствие роста колонии МБТ; + (плюс) наличие роста колонии МБТ

Штаммы, обработанные препаратом и бактериоскопически окрашенные по методу Циля-Нильсена не обнаружены под микроскопом (увеличение 12X90 и 12X100), обнаружены только деструктурные элементы клеток, окрашенные в синий цвет, тогда как в контрольных мазках (без препарата) обнаружены туберкулёзные палочки, окрашенные в алый цвет.

Приведенные исследования свидетельствуют о том, что препарат Целозан оказывает бактерицидное и бактериостатическое действие на микобактерии туберкулёза.

Далее нами проведены эксперименты по изучению противотуберкулёзной активности препарата Целозан на 15 морских свинках (таблица 2).

Таблица 2 - Схема опыта по изучению специфической активности препарата Целозан на морских свинках

Ns гр.	Кол-во голов	Название штамма	Доза заражения мг/кг	Доза препарата мг/кг	Способ введения препарата	Интервал применения
1	6	Humanis № 2520	0,1	30	Целозан Per os	ежедневно
2	3	Humanis № 2520	0,1	10	Изониазид Per os	ежедневно
3	3	Интактные животные	0,1	-	-	-
4	3	Интактные животные	0,1	30	Целозан Per os	ежедневно

Через 14 дней после заражения животным 1-й группы начали задавать препарат Целозан, 2-й опытной группе задавали препарат изониазид для сравнительной оценки эффективности антибактериальной активности препарата Целозан. 3-я группа контрольно-зараженные, не получали препарат. 4-я группа - интактные, незараженные, применяли Целозан в течении 90 дней для изучения токсического и кумулятивного действия препарата. После завершения наблюдений были проведены вскрытия и патологоанатомические исследования подопытных животных.

При убое двух морских свинок, зараженных возбудителями туберкулёза, с последующим их лечением препаратом Целозан, в легких и паренхиме печени обнаружено по 1-2 белых точки некротического характера. В других внутренних органах - сердце, почках, желудочно-кишечном тракте, селезенке и лимфатических узлах патологических изменений не обнаружено. У остальных 4 морских свинок при убое во внутренних органах не обнаружены видимые патологические изменения. При забое морских свинок, зараженных возбудителями туберкулёза, с последующим их лечением препаратом изониазид, в легких первой морской свинки обнаружено 2-3 белых пятна туберкулёзного характера, аналогичные изменения обнаружены и на почках. У второй морской свинки в лимфатических узлах и внутренних органах заметных изменений не обнаружено.

При исследовании внутренних органов контрольной группы морских свинок, не получивших препараты, во внутренних паренхиматозных органах, в частности в легких, обнаружены некротические очаги тотального характера. Так же обнаружено увеличение объема печени в 2 и 3 раза, а паренхима на 50 % подвергалась некрозу. В селезенке и почках обнаружены аналогичные изменения.

Для установления кумулятивного и токсического действия препарата исследованы внутренние органы морских свинок. При этом не обнаружены видимые патологические изменения в их внутренних органах.

Выводы. Таким образом, на основании испытания препарата Целозан *in vitro* против возбудителей туберкулёза установлено, что препарат обладает высокой бактериостатической и бактерицидной активностью. У лабораторных животных, получивших препарат Целозан, после их заражения возбудителями туберкулёза установлено, что в их организме туберкулёз не развивается.

У морских свинок, зараженных возбудителями туберкулёза, но не получивших препарат Целозан, наблюдалось выраженное развитие туберкулеза в их внутренних органах. На основании экспериментальных исследований установлено, что препарат Целозан в сравнении с изониазидом проявляет ярко выраженную антимикробную активность, что открывает перспективы продолжения исследований в данном направлении.

Препарат Целозан не обладает токсическими и кумулятивными действиями на организм морских свинок.

1. Желткова, Е., Балабанова Я., Рази М., Уэлдон М. и др. Спoлигoтипирoвание культур микoбaктерий тyбepкyлeзa выделeнных oт бoльных из Самарской oблaсти /Микoбиoлoгия, Эпидемиoлoгия и иммyнoлoгия. Мoсква «С-ИИФO» 2004. - С. 65-67. 2. Нaстaвление пo диaгнoстике тyбepкyлeзa живoтных (Утв. 25.02.1988) - М., 1988, - 43 с. 3. Рeкoмeндaция пo лaбoрaтoрнoй диaгнoстике тyбepкyлeзa. Омск, 1988. -64 с. 4. Хaмрaкyлoв.Р.Ш., Нaзирoв, П.Х.,Мyаzzaмoв, Б.Р. Сил вaунингaшкилийaсoспaри. Тaшкeнт: Абу Али Ибн Синa.-2001.,177 с. 5. Финкeль, Е.А., Микaйлoвa, Л.В. Биoлoгичeский мeтoд иccлeдoвaний при тyбepкyлeзe. - «Кыргизстaн» Фрунзe, С. 118-149. 6. Ящeнкo, Т.Н., Мeчeвa, И.С. Рyкoвoдствo пo лaбoрaтoрным иccлeдoвaниям при тyбepкyлeзe. - М.: Мeдицинa, 1973. С. 53-77. 7. Dye C., Scheele S., Dolin P. et al. Consensus statement. Global burden of tuberculosis: estimated incidence, prevalence, and mortality by country. WHO Global Surveillance and Monitoring Project. JAMA. 1999, 282 (7): 677-686. 8. Espinal M.A. The global situation of MDR-TB. Tuberculosis. 2003, 83:44-51. 9. World Health Organization Report Global tuberculosis Control .Surveillance: Planing Financing, 2004.

STUDY OF ANTIBACTERIAL EFFECTIVENESS OF PREPARATION "CELAZON" AGAINST TUBERCULOSIS AGENTS

Mamadullaev G.Kh., Mavlanov S.I.

Uzbek Scientific-Research Institute of Veterinary, Samarkand,

Sarymsakov A.A., Gafurov D.R.

Institute of Polymer Chemistry and Physics, Academy of Science Republic of Uzbekistan, Tashkent

Results of laboratory researches of new antituberculosis preparation 'Celazon' are presented in the article. The preparation is tested by direct and indirect bacteriological methods, by biological method on cavies, infected by mycobacterium of tuberculosis of type M. Humanis.

Results of tests are generalized according to bacteriological and postmortem researches. The antimicrobial efficiency of a preparation 'Celazon' against mycobacterium of tuberculosis is proved.

УДК 619:616-092.612.017-008.64

ПОЛЕВАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОТИВОВИРУСНЫХ ВАКЦИН ДЛЯ КОРОВ, ИНФИЦИРОВАННЫХ ВИРУСОМ ЛЕЙКОЗА

Мищенко А. В., Думоа В. В., Мищенко В. А., Черных О. Ю.

Федеральный центр охраны здоровья животных ФГУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир)

В системе мер борьбы и профилактики инфекционных болезней крупного рогатого скота вакцинопрофилактика является неотъемлемой частью благополучия и экономической эффективности хозяйств. Массовая вакцинация позволяет создать популяционный иммунитет, предупредить вспышку болезни, снизить уровень заболеваемости или купировать начавшийся эпизоотический процесс. У вакцинированных животных существенно снижена циркуляция и выделение вируса, вплоть до элиминации его в иммунной популяции, что не всегда препятствует проникновению вируса в организм вакцинированных особей.

Возникновение и поддержание болезни в стаде зависит от уровня специфического иммунитета, физиологического состояния животных, факторов внешней среды и инфицирующей дозы возбудителя. В основном инфекционные заболевания возникают у крупного рогатого скота с иммунодефицитным состоянием. Иммунные дефициты или недостаточность иммунной системы представляют собой патологическое состояние организма, при котором отмечается пониженный иммунный ответ на действие различных антигенов или его отсутствие [2].

Иммунодефициты - это нарушения иммунного статуса организма, обусловленные отклонениями в одном или нескольких механизмах иммунного ответа. Для крупного рогатого скота наиболее важными являются вторичные, приобретенные, иммунодефициты, характеризующиеся снижением эффекторных звеньев иммунной системы, неспецифических факторов защиты. Главным проявлением иммунодефицитов является повышенная заболеваемость инфекционными болезнями [4, 5]. Инфицирование вирусом лейкоза сопровождается развитием иммунодефицитного состояния в организме коров [4, 6].

Лейкоз крупного рогатого скота - сегодня одна из наиболее острых общепрофилактических и социальных проблем. По данным Департамента ветеринарии Минсельхоза России, в структуре инфекционной патологии страны на лейкоз приходится 57,3 % [1]. В России во многих хозяйствах практикуется временное передерживание инфицированных вирусом лейкоза коров.

В данном сообщении приведены результаты изучения иммунного ответа больных лейкозом и инфицированных вирусом¹ лейкоза коров на введение противовирусных вакцин.

Материалы и методы. Для проведения исследований были использованы сыворотки крови коров, больных лейкозом и инфицированных вирусом лейкоза. В качестве контроля были использованы здоровые коровы.

Исходя из эпизоотической ситуации в неблагополучных хозяйствах коровы были вакцинированы инактивированной сорбированной вакциной против ящура А, О и Азия-1, а также инактивированной сорбированной или эмульсионной вакциной против паратифа-3 и инфекционного ринотрахеита КРС.

В отдельных хозяйствах коровы были иммунизированы инактивированной эмульсионной вакциной против паратифа-3, инфекционного ринотрахеита и коронавирусной инфекции КРС, а также эмульсионной вакциной против паратифа-3, инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи КРС.

Антитела к вирусу ящура типа О выявляли в реакции нейтрализации (РН), к вирусу инфекционного ринотрахеита - методом РИГА и ИФ- к вирусу паратифа-3 и коронавирусу - в реакции торможения гемагглютинации (РТГА).

Результаты исследований и обсуждения. Представленные в табл. 1 результаты свидетельствуют о том, что у больных лейкозом коров уровень поствакцинальных противоящурных антител на $1,9 \log_2$ меньше, чем у здоровых животных, а у инфицированных вирусом лейкоза - на $0,9 \log_2$.

Коровы, больные лейкозом, индуцируют образование антител на введение инактивированной эмульсионной вакцины против ИРТ, ПГ-3 и коронавирусной инфекции в титрах $4,0; 5,4$ и $5,7 \log_2$, что на $1,5 - 1,6 \log_2$ ниже аналогичных показателей у здоровых животных. У инфицированных вирусом лейкоза коров уровень поствакцинальных антител был на $0,5, 0,9$ и $0,7 \log$ ниже, чем показатели у здоровых особей.