

ALGORITHM OF ACTIVITIES OF THE SPECIALISTS IN THE VETERINARY SYSTEM OF KAZAKHSTAN IN DIFFERENT SITUATIONS OF ESPECIALLY DANGEROUS INFECTIONS ORIGIN

Mamadaliyev S.M., Orynbayev M.B., Savinkov A.F., Belousov V.Yu., Rystayeva R.A., Kerimbaev A.A.
RI of Biological Safety Problems of MSS, Republic of Kazakhstan

Algorithm of activities of specialists in the veterinary system of Kazakhstan in different situations of origin of especially dangerous infections is proposed in the paper.

УДК 619.616.615.724.8.559.59

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ
НОВОГО ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОГО ПРЕПАРАТА**

Мамадулаев Г.Х.

Узбекский научно-исследовательский институт ветеринарии, г. Самарканд

Нуриддинова Н.

Узбекский национальный университет им. М.Улугбека, г. Ташкент

В последние годы наблюдается тенденция распространения лекарственно-устойчивых микобактерий, что является одной из причин неэффективности проводимой специфической химиопрофилактики. Так, среди больных туберкулезом возросло число людей, выделяющих микобактерии с множественной устойчивостью к противотуберкулезным препаратам [1, 4].

Медики различают МЛУ-туберкулез и ШЛУ-туберкулез. МЛУ-туберкулез – особая форма заболевания с множественной лекарственной устойчивостью. Развиваются случаи устойчивости микобактерий туберкулеза как минимум к двум самым мощным противотуберкулезным препаратам.

ШЛУ-туберкулез – форма заболевания с широкой лекарственной устойчивостью. При этом к свойствам МЛУ-туберкулеза добавляется и невосприимчивость и к антибиотикам-фторхинолонам и, как минимум, к одному из трех инъекционных препаратов второго ряда лечения.

Появление лекарственно-устойчивых популяций микобактерий обусловлено биологическим законом отбора и приспособления микроорганизмов при лечении антибактериальными препаратами. Нерациональное лечение приводит к тому, что больные люди остаются носителями устойчивых популяций микобактерий, это способствует размножению устойчивых мутантов [1, 2, 5], создает риск распространения инфекции среди здоровых людей и животных, и появления новых форм лекарственно-устойчивых возбудителей туберкулеза.

Исследования ВОЗ, охватившие 35 стран мира (1994-1997 гг.) показали высокую частоту устойчивости микобактерий туберкулеза к противотуберкулезным препаратам.

Учитывая актуальность этой проблемы, была поставлена задача создания и разработки нового лекарственного средства, обладающего не только антибактериальной, но и иммуномодулирующей активностью, на основе местного растительного сырья.

В связи с этим, целью нашего исследования явилось изучение эффективности нового противотуберкулезного препарата «Тубазид-МАСКГ». Этот препарат был разработан совместно с учеными Ташкентского национального университета для специфической химиотерапии и химиопрофилактики туберкулеза человека и животных.

Материалы и методы. При создании препарата «Тубазид-МАСКГ» была впервые использована технология молекулярного капсулирования для получения супрамолекулярных комплексов тубазида, фтивазида с производными глицирризиновой кислоты и некоторых полимерных носителей.

Полученный супрамолекулярный комплексный препарат «Тубазид-МАСКГ» (комплексное соединение) представляет собой аморфный порошок желтовато-белого цвета. Температура плавления препарата равна 195°C (T = +195°C), он растворим в воде с образованием геля (в концентрации 1 % и более), а также растворим в водно-этаноловом растворе (1:1).

Для определения специфической активности препарата воспользовались бактериологическим методом, путем выращивания микобактерий на питательных средах с различным содержанием концентрации препарата. При этом применяли 2 метода:

- а) прямой метод – посев соответственно обработанных колоний туберкулеза с различными концентрациями препарата на питательные среды,
- б) непрямой метод – пересев культур микобактерий туберкулеза на среды, содержащие различные концентрации препарата.

Перед опытом готовили рабочие разведения препарата в следующих концентрациях:

1. Однопроцентный раствор препарата на дистиллированной воде.
2. Однопроцентный раствор препарата на этаноле.
3. Двухпроцентный раствор препарата на дистиллированной воде.
4. Двухпроцентный раствор препарата на этаноле.

В качестве эталона изучения специфической активности препарата использовали штамм микобактерий *M.tuberculosis* – МБТ Humanis и штамм МБТ *M. bovis*.

Для осуществления прямого бактериологического метода предварительно бактериальную массу штамма МБТ Humanis и *M. bovis* помещали в пробирки, где содержались указанные концентрации препарата. После этого бактериальную суспензию на растворе препарата инкубировали в термостате при 37°C в течение 3-5 часов и 1-х суток. С истечением срока инкубации бактериальную массу дважды отмывали в физиологическом растворе путем центрифугирования. Из осадка центрифугата делали посеvy на питательные среды Гельберга.

При непрямом методе бактериологического исследования специфической активности препарата из культуры МБТ Humanis и *M. bovis* делали пересевы на питательные среды Гельберга с содержанием препарата в вышеуказанных концентрациях.

Далее проводили эксперименты по изучению специфической активности препарата «Тубазид-МАСКГ» на 24 морских свинках, которые были разделены на 8 групп по 3 головы в каждой.

Перед опытом морские свинки были исследованы на туберкулез аллергическим методом. Туберкулин вводили морским свинкам в дозе 25 ТЕ внутривенно. Перед введением препарата участок кожи готовили – выстригали шерсть и обрабатывали 70 %-ным спиртом. Учет реакции проводили через 48 часов после введения туберкулина. В результате проведенного исследования не было отмечено положительно реагирующих на ППД-туберкулин животных.

После этого всех морских свинок заражали вирулентными штаммами микобактерий *M. bovis* и *M.tuberculosis* в дозе 0,03 мг/кг, подкожно.

Результаты исследований. Для изучения непосредственного влияния препарата на штаммы МБТ Humanis и МБТ M. bovis в стерильных условиях были приготовлены 0,5; 1,0 и 2,0 %-ные растворы препарата. Вышеуказанные штаммы в приготовленных растворах были инкубированы при 37°C в термостате в течение 30 минут, 1 и 2 часов, затем обработаны по методу Гон-Левенштейн-Сумиоши и высажены на питательные среды Гельберга (первый метод). Одновременно растворы препаратов различной концентрации были высеяны непосредственно на питательные среды Гельберга (второй метод). В качестве контроля на питательные среды были высеяны штаммы МБТ-Humanis и МБТ M. bovis без добавления препарата. Наблюдения велись 90 дней.

В результате исследований обнаружено, что в обоих методах обработанный препаратом различных концентраций штамм микобактерий не образует на питательных средах бактериальную массу, тогда как в контрольной группе во всех пробах был рост микобактерий туберкулеза. Штаммы, обработанные препаратом не обнаружены и бактериоскопически (увеличение 12 x 90 и 12 x 100), тогда как в контрольных мазках обнаружены туберкулезные палочки.

Как показали бактериологические исследования препарат «Тубазид-МАСКГ» оказал бактерицидное и бактериостатическое действие на штаммы микобактерий туберкулеза.

Эксперименты по определению специфической активности препарата ставили на морских свинках, предварительно исследованных на туберкулез аллергическим методом. Для этого использовали ППД-туберкулин Курской биофабрики в соответствии с наставлением. Положительно реагирующих животных выявлено не было.

Было изучено влияние препарата на морфологию внутренних органов животных, восприимчивых к туберкулезу. Предварительно все животные проходили карантинное наблюдение в течение месяца, затем животные отбирались для экспериментальных исследований. Все животные содержались в одинаковых условиях вивария и получали одинаковый рацион.

Все опытные животные были разделены на 8 групп: животные 1-й, 2-й и 3-й группы были заражены МБТ- Humanis, получали препарат в дозе 5, 10 и 20 мг/кг, животные 4-й, 5-й и 6-й группы заражали штаммом МБТ bovis и препарат задавали в дозах 5, 10 и 20 мг/кг; 7-й группе животных после заражения для сравнения задавали препарат изониазид в дозе 10 мг/кг. 8-я и 9-я группы служили контролем: и соответственно заражали M. bovis и M.tuberculosis. Контрольные животные после заражения не получили препарат. После заражения опытным животным препарат вводили через день в течение 3 месяцев. После завершения опыта все опытные и контрольные животные в состоянии наркоза этиналом натрия были обезглавлены. У них вскрывали грудно-брюшную полость и осматривали органы: желудок, тонкую кишку, печень, почки, селезенку, сердце, легкие и др.

Как показали результаты исследований, все животные, получавшие препарат, не заболели туберкулезом, а животные контрольных групп (не получавшие препарат) заболели. Инфицирование и болезнь были установлены при вскрытии животных контрольной группы. У них обнаружена генерализованная форма туберкулеза с казеозным распадом, поражены паренхиматозные органы – легкие, печень, почки, селезенка. После соответствующей гистологической обработки тканевые срезы были окрашены гематоксилин-эозином и просмотрены под световым микроскопом Zeleica фирмы Leitz Biomed (Португалия).

Гистологическая картина легкого подопытных животных, зараженных туберкулезом после лечения препаратом «Тубазид-МАСКГ» в дозе 10 мг/кг: под микроскопом выявляется поперечный срез доли легкого. На гистопрепарате отчетливо выделяется хорошо сохранившаяся висцеральная плевра в виде тонкой соединительной пластинки, покрытой сверху плоскими клетками. Легочная ткань представлена многочисленными альвеолами, просвет которых умеренно расширен, стенка их тонкая и изнутри выстлана уплощенными эпителиальными клетками, ядра которых также имеют вытянутую форму. Межальвеолярные перегородки представлены умеренно развитыми соединительно-тканевыми элементами, содержащими единичные клеточные элементы. В толще этой ткани расположены многочисленные кровеносные капилляры, в просвете которых выявляются форменные элементы крови. Мелкие бронхи выстланы однослойным кубическим реснитчатым эпителием, цитоплазма их окрашена оксифильно, ядра имеют удлинённую форму. В более крупных бронхах стенки их имеют аналогичное строение, однако в просвете их выявляется клеточный детрит, слизь и цилиндры.

В средних и крупных бронхах хорошо выделяются все оболочки, эпителий многорядный мерцательный, с примесью бокаловидных клеток, собственная пластинка содержит большое число кровеносных сосудов, подслизистая и фиброзно-хрящевая оболочки имеют обычное строение.

Следует отметить, что наряду с обычным строением, отдельные участки представлены спавшейся легочной тканью, центральная часть которой состоит из разросшейся соединительной ткани, которая густо инфильтрирована лимфогистиоцитарными элементами. Других, патоморфологических изменений, не выявлено.

В целом, анализ проведенных исследований позволяет заключить, что при введении препарата «Тубазид-МАСКГ», структура легкого значительно лучше сохранена, чем при введении изониазида. При этом легочная ткань имеет такую же структуру, как обычно в норме, но содержит небольшие участки со спавшимися альвеолами и разросшейся соединительной тканью, инфильтрированной лимфогистиоцитарными элементами, что свидетельствует о рубцевании ранее патологически измененных участков.

Сравнительное изучение по морфологии внутренних органов печени, почки, селезенки и легкого в сериях опытов с введением противотуберкулезного препарата позволило установить, что более высоким лечебным эффектом обладает комплексное соединение «Тубазид-МАСКГ» в сравнении с изониазидом.

В контрольной группе животных легочная ткань диффузно поражена, в состоянии хронического воспалительного процесса, большая часть альвеол спавшаяся или замещена соединительной тканью, местами выявляются свежие очаги некроза. В целом, вся ткань диффузно инфильтрирована лимфогистиоцитарными элементами.

В седьмой группе животных, где в качестве лечебного средства применялся изониазид, легочная ткань выглядела несколько лучше, чем при применении испытуемого препарата. В легких большинство альвеол умеренно расширены и имеют обычное строение. Вместе с тем, в обширных участках ткани легкого обнаруживали признаки хронического воспалительного явления, где просветы альвеол не выявляли и они замещены соединительной тканью, более того, инфильтрированы клеточными элементами. Следует отметить, что пораженные участки постепенно переходят в нормальную окружающую ткань.

Таким образом, во внутренних органах зараженных туберкулезом животных, после введения препарата «Тубазид-МАСКГ» патологические изменения, характерные для туберкулеза, не обнаружены, и наоборот, во внутренних органах (печени, легких, селезенке, почках и местах заражения) животных контрольной группы выявлены характерные для туберкулеза некротические изменения.

Розділ 3. Ветеринарна мікробіологія

В опытах на лабораторных животных показано, что наиболее эффективной лечебной дозой препарата «Тубазид-МАСКГ» является 10 мг/кг.

Выводы.

1. В ходе экспериментальных исследований нового препарата против туберкулеза было установлено, что данный супрамолекулярный комплекс «Тубазид-МАСКГ» обладает бактериостатическими и бактерицидными свойствами в отношении изученных штаммов МБТ *M. bovis* и *M. tuberculosis* в концентрациях 1,0 % и 2,0 %.

2. Результаты проведенных гистологических исследований позволяют заключить, что «Тубазид-МАСКГ» в дозах 10 мг/кг и 20 мг/кг является безопасным средством.

3. Установлено, что длительное его применение не вызывает заметных структурных деструкций или повреждений, и этот препарат может быть рекомендован для дальнейших клинических испытаний.

4. В опытах на лабораторных животных показано, что наиболее эффективной лечебной дозой препарата «Тубазид-МАСКГ» является 10 мг/кг.

Список литературы

1. Клименко, М.Т. Биологические особенности микобактерий туберкулеза, полирезистентных к противотуберкулезным препаратам / М.Т. Клименко // Проблемы туберкулеза. – 1984 – № 12. – С. 60-63.
2. Мамадуллаев, Г.Х. Проблемы лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза // Мониторинг распространения и предотвращения особо опасных болезней животных // Материалы Международн. научн. конф. – Самарканд, 2001. С. 101-103.
3. Першин, Г.Н. Методы экспериментальной химиотерапии – М., «Медицина» – 1971. – С. 171-184.
4. Приймак, А.А. и др. Тенденция в развитии лекарственной устойчивости возбудителя туберкулеза // Проблемы туберкулеза. – 1985. – №8 – С. 49-51
5. Суркова, Л.К., Дюсюмикеева, М.И., Васильевский, А.Г. Определение лекарственной устойчивости микобактерий туберкулеза в очаге туберкулезного воспаления // Рубрика 76.29.53. НИИ пульмонологии и фтизиатрии МЗ РФ. 2003.

RESULTS OF STUDY OF SPECIFIC ACTIVITY OF NEW PREPARATION AGAINST TUBERCULOSIS

Mamadullaev G.H.,

Uzbek Scientific Research Institute of Veterinary, Samarkand,

Nuriddinova N.

Uzbek National University named after M. Ulugbek, Tashkent

Results of laboratory test of new preparation Tubazid-MASKG against tuberculosis are presented in the article. Specifically activity of preparation is studied, bacteriological and histological test on the different laboratorial animals.

There was determined that preparation Tubazid-MASKG has specifically activity against mycobacterium of tuberculosis, harmless for laboratorial animals and not cause structural changes in organism.

УДК 615.281:547.8351.012.1

ПРОТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ СТИРИЛОВИХ БАРВНИКІВ НА ОСНОВІ ПОХІДНИХ ОКСОТЕТРАГІДРОАКРИДИНІВ

Мельник М.В., Яремчук Д.О., Волянський А.Ю., Кучма І.Ю., Мартіросян І.О., Маланчук С.Г., Вальчук С.І., Мізін В.В., Балута І.М., Черняєва Т.А., Руденко Л.М.

Івано-Франківська державна медична академія, м. Івано-Франківськ, ДУ «Інститут мікробіології і імунології ім. І.І.Мечнікова АНМ України», м. Харків, Вітебський медичний університет МОЗ Білорусі, м. Вітебськ

Спрямований синтез біологічно активних речовин та створення програм ефективного пошуку вимагає реальних досліджень протимікробної активності потенціально активних класів сполук та їх похідних, що містять різні функціональні групи.

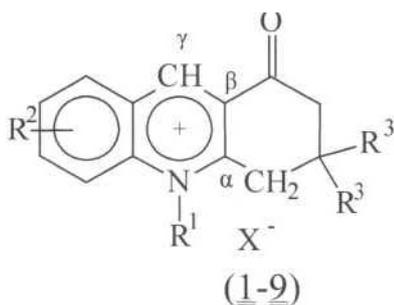
Відомо, що похідні хіноліну проявляють протимікробну активність до різного роду патогенних мікроорганізмів [1, 2]. Речовини, що містять акридинове кільце можна розглядати як похідні хіноліну, а отже, і як потенціально біологічно активні речовини. Синтез акридинів, які містять різні активні групи, здійснений взаємодією ряду вторинних ароматичних амінів з формальдегідом і циклічним 1,3-дикетоном -дімедоном в присутності мінеральних кислот і нітробензолу, що служить одночасно і розчинником і оксидником [3]. В одержаних таким чином солей оксотетрагідроакридинію (1-9) вже означена протимікробна активність [4].

Дослідження електронної будови [5] катіонів солей оксотетрагідроакридинію (1-9) виявили в них три реакційні центри:

- 1) метиленову групу, приєднану до α-положення піридинового кільця, що проявляє С-Н-кислотні властивості;
- 2) електрофільне α-положення піридинового кільця;
- 3) електрофільний атом вуглецю карбонільної групи.

Наявність електрофільного онієвого атома азоту в катіонах солей (1-9) призводить до нерівномірного розподілу електронної густини. Розрахунок останньої методом Хюккеля, проведений нами [5], показав, що α- і γ- положення піридинового кільця характеризуються мінімальною π-електронною густиною. Метильні та метиленові групи, приєднані до таких положень, проявляючи властивості СН-кислот, набувають підвищеної реакційної здатності.

У зв'язку з цим проведено дослідження взаємодії вище вказаних солей азотистих гетероциклів з п-диметиламінобензальдегідом (ДМАБА). Реакцію проводили в різних розчинниках: в спиртах з каталітичними кількостями піперидину чи триетаноламіну, а також без каталізаторів у піридині та оцтовому ангідриді [6]. Встановлено, що реакція перебігає тільки в середовищі останнього за наведеною схемою:



триетаноламіну, а також без каталізаторів у піридині та оцтовому ангідриді [6]. Встановлено, що реакція перебігає тільки в середовищі останнього за наведеною схемою: