

УДК 615.4:615.07

ИННОВАЦИОН ПЕРОРАЛ “ДОРОВАК” АНТИРАБИК ВАКЦИНА

Маматова Муборак Нурпулатовна

В.ф.д., Клиник лаборатор диагностика кафедраси профессор в.б. Самарқанд Давлат
Тиббиёт Университети, Самарқанд ш.

<https://doi.org/10.5281/zenodo.14029142>

Аннотация: Бугунги кунда бизнинг ҳамда чет эл инфекционистларининг ўта долзарб масаласи ҳисобланган қутуриш касаллигини йўқотиш муаммоси ўрганилган. Ушбу муаммони ечими учун илмий тадқиқотлар натижасида қутуриш касаллигининг эпизоотик вируси билан экспериментал зарарланишга 100% чидамликка эга бўлган инновацион технология асосида такомиллаштирилган драже шаклидаги перорал антирабик вакцинани яратишга муваффақ бўлдик.

Калит сўзлар: қутуриш, патоген, экология, ёввойи фауна, эксперимент, антирабик вакцина, перорал иммунизация, такомиллаштирилган.

ИННОВАЦИОННАЯ ПЕРОРАЛЬНАЯ АНТИРАБИЧЕСКАЯ ВАКЦИНА «ДОРОВАК»

Аннотация: Изучена проблема ликвидации бешенства, которая на сегодняшний день считается наиболее актуальной задачей наших и зарубежных инфекционистов.

Для решения этой проблемы на основе инновационной технологии добились разработать усовершенствованную пероральную антирабическую вакцину в виде драже который имеет 100 %-ную устойчивость к экспериментальному заражению эпизоотическим вирусом бешенства.

Ключевые слова: бешенство, патоген, экология, дикая фауна, эксперимент, антирабическая вакцина, пероральная иммунизация, усовершенствованная.

INNOVATIVE ORAL ANTIRABIC VACCINE «DOROVAC»

Abstract: The problem of eliminating rabies has been studied and it is currently considered the most urgent task of our and foreign infectious disease specialists. On the basis of innovation technologies are obtained to work out improved peroral antirabic vaccine in the form of pill which has 100 percent stability to experimental infection of epizootic virus of hydrophobia.

Keywords: rabies, pathogen, ecology, wild fauna, experiment, rabies vaccine, oral immunization, improved.

КИРИШ

Қутуриш - нейратроп вирус кўзгатадиган ўта хавфли инфекция касаллик бўлиб, марказий асаб тизимининг жуда оғир зарарланиши билан тавсифланади [1, 2]. Қутуриш касаллиги билан барча иссиқ қонли ҳайвонлар, паррандалар ва одамлар касалланади [7, 8, 9]. Қутуриш инфекциясининг аҳоли ўртасида кенг тарқалишида фаол иштирок этувчи кучни аниқлаш ва қарши кураш тадбирларини айнан шу кучга қаратиш илмий-амалий аҳамиятга эгадир [5, 6]

Жаҳон адабиётлари таҳлили шуни кўрсатмоқдаки, ҳозиргача қутуриш касаллигининг бир қанча муаммолари: барча тур ҳайвонларда, шу жумладан ёввойи ҳайвонларда касаллик тарқалишининг ўзига хос хусусиятларини ўрганиш, стационар носоғлом табиий ўчоқлар худудида ушбу касалликка қарши ҳайвонларни, айниқса дайди

итлар ва ёввойи ҳайвонларни эмлаш каби масалалар ўз ечимини тўлиғича топгани йўқ [14, 15, 16].

Шунинг учун Республика вилоятлари ҳудудларида барча тур ҳайвонлар орасида қутуриш эпизоотологиясининг ўзига хос хусусиятларини ўрганиш, вирус манбаи ва табиатда унинг барқарорлигини таъминловчи ёввойи гўштхўр ҳайвонларни, айниқса дайди ит, мушукларни ушбу касалликка қарши оғиз орқали эмлайдиган донатор антирабик вакцина ишлаб чиқариш ҳамда уни амалиётга жорий қилиш эвазига қутуриш бўйича соғлом эпизоотик ҳолатни вужудга келтириш катта ижтимоий - иқтисодий аҳамиятга молик тадбир саналади [10, 11, 12, 13].

УСУЛЛАР

Донатор антирабик вакцина “0-73-02” штамми қутуриш фикс-вируси билан зарарланган мия тўқимасидан тайёрланди. Ушбу вакцинага зарур бўлган фикс-вирус штамми 2006 йил (1AP 03128) ва вакцинани ўзи эса 2012 йил (1AP 04610) патентлар билан ҳимояланган [3, 4]. Вакцинанинг безарарлиги ва реактогенлигини аниқлаш учун 2 та тажриба ўтказилди. Жами 4 бошдан 8 бош 6 ойлик итларга 1 донадан вакцина берилди. Улар 15 кун давомида кузатилди. Уларда 15 кун давомида ҳеч қандай салбий ўзгаришлар кузатилмади.

1- жадвал. Донатор антирабик вакцинанинг безарарлиги ва реактогенлигини текшириш натижалари

Т/р	Ҳай- вон тури	Бош сони	Вакцина дозаси. Оғиз орқали	Текшириш муддатлари ва олинган натижалар			
				3 кун	5 кун	10 кун	15 кун
1	Ит	4	1 дона	Итларда салбий ўзгаришлар кузатил- мади	Итларда салбий ўзгаришлар кузатил- мади	Итларда салбий ўзгаришлар кузатил- мади	Итларда салбий ўзгаришлар кузатил- мади

Шундай қилиб, ушбу антирабик вакцинанинг ҳайвонлар учун безарарлиги ва реактоген эмаслиги аниқланди.

Донатор антирабик вакцинанинг иммуногенлигини ва иммунитет давомийлигини лаборатория шароитида ўрганиш учун тажрибалар 21 бош ёш итларда олиб борилди. 21 бош бир ёшли итлар 6 гуруҳга: 12 бош (4 бошдан 3 та гуруҳ-тажриба) ва 9 бош (3 бошдан 3 та гуруҳ) назорат) бўлиниб, тажриба ўтказилди. Ишлаб чиқилган вакцинадан 1 донадан 12 бош (3 та тажриба гуруҳи) итга берилди, улар бир донадан вакцинани еди. Назорат гуруҳларига мансуб 9 бош итлар эса антирабик вакцина билан эмланмади, уларга вакцина берилмади ва улар назорат бўлиб хизмат қилди.

Вакцинанинг иммуногенлиги 6, 9, 12 ойдан сўнг ўткир тажрибаларда итларда ўрганилди.

Тақомиллаштирилган донатор антирабик вакцинанинг иммуногенлик индекси Техник Шартларга мувофиқ қуйидагича бўлиши шарт. Агар тажриба натижасида назоратдаги эмланмаган барча итлар ўлса (100 %), вакцина билан эмланган итларнинг иккинчи тажриба гуруҳидаги (1 донадан вакцина едилган итлар, яъни вакцина билан

эмланган) 3 бош итнинг ҳаммаси (тажрибага камида 3 бош ит олинади) тирик қолса, вакцина етарли иммуноген ҳисобланади.

Такомиллаштирилган донатор антирарабик вакцинанинг иммуногенлигини 1 йиллик итларда ўрганиш ушбу вакцинани ишлаб чиқариш Техник Шартлари асосида олиб борилди.

Бунинг учун тажрибалар 21 бош ёш итларда олиб борилди. Аввало лабораторияда ишлаб чиқарилган антирарабик вакцинанинг иммуногенлигини ўрганиш учун тажрибадаги 21 бош бир ёшли итлар 6 гуруҳга: 12 бош (4 бошдан 3 та гуруҳ-тажриба) ва 9 бош (3 бошдан 3 та гуруҳ) назорат) бўлиниб, тажриба ўтказилди (2- жадвал). Ишлаб чиқилган вакцинадан 1 донадан 12 бош (3 та тажриба гуруҳи) итга берилди, улар бир донадан вакцинани еди. Назорат гуруҳларига мансуб 9 бош итлар эса антирарабик вакцина билан эмланмади, яъни уларга вакцина берилмади ва улар назорат бўлиб хизмат қилди.

2- жадвал. **Донатор антирарабик вакцинанинг иммуногенлигини ўрганиш тажрибалар схемаси**

Гуруҳлар	Итлар сони	Бир итга берил-ган вакцина сони	Вирус билан зарарланган итлар сони
1-тажриба	4	1	4
1-назорат	3	-	-
2-тажриба	4	1	4
2-назорат	3	-	-
3-тажриба	4	1	4
3-назорат	3	-	-

Тажрибадаги ва назорат гуруҳи итларидан эмлашдан олдин ва 3, 6, 9 ва 12 ой эмлангандан сўнг қон зардоби олиниб, уларда қутуриш вирусига қарши ҳосил бўлган вирусни нейтралловчи антителолар титри нейтраллаш реакциясида текширилди. Итлардан олинган қон зардоби нейтраллаш реакцияси кўйиш учун 1:2, 1:4, 1:8, 1:12, 1:16, 1:24, 1:32, 1:48, 1:64 ва 1:128 нисбатларда суюлтирилди. Тажрибадаги 12 бош ит эмлангандан 6, 9 ва 12 ой ўтгандан кейин ҳамда назоратдаги 9 бош ит титри $10^{-4,5}$ лог. ЛД₅₀ 0,03 мл бўлган дала вирусига билан ўша муддатларда чайнаш мускулига 2 мл миқдорда зарарлантирилди ва олинган натижага қараб вакцинанинг самарадорлигига баҳо берилди. Барча вирус билан зарарлантирилган итлар 120 кун давомида кузатилди. Қутуришга қарши тақомиллаштирилган вакцина едилган итларда иммунитет шаклланиши учун улар ушбу муддатда ўлмагани сабабли, улар юқорида таъкидланган муддатларда (6, 9, 12 ойда-тажрибадан сўнг) мажбурий ўлдирилиб крематорияда қуйдирилди.

Такомиллаштирилган драже ҳолида тайёрланган донатор антирарабик вакцинанинг иммуногенлигини итларда нейтраллаш реакциясида текшириш натижалари 3-жадвалда ўз аксини топган. 3-жадвал маълумотларидан кўриниб турибдики, учала тажрибадаги итларнинг қон зардобидан эмлашдан олдин қутуришга қарши антителолар титри нейтраллаш реакциясида текширилганда уларнинг қон зардобидан қутуриш вирусига қарши вирусни нейтралловчи антителолар умуман қайд этилмаган.

3-жадвал. **Такомиллаштирилган драже ҳолида тайёрланган донатор антирабик вакцинанинг иммуногенлигини итларда нейтраллаш реакциясида текшириш натижалари**

Гуруҳлар	Итлар сони	Вакцина дозаси	Антителалар титри ва текшириш муддатлари				
			Эмлаш-гача	3 ой	6 ой	9 ой	12 ой
Тажриба	12	1	-	1:48 (1:32-1:64)	1:32 (1:24-1:48)	1:24 (1:16-1:32)	1:12 (1:8-1:16)
Назорат	9	-	-	-	-	-	-

Тажриба гуруҳидаги 1 донадан антирабик вакцина еган итларнинг қон зардоблари эмлангандан 3 ой сўнг нейтраллаш реакциясида текширилганда қутуриш вирусига қарши антителолар титри ўртача 1:48 ни, 6 ойдан кейин 1:32 ни, 9 ойдан сўнг 1:24 ни ва 12 ойдан сўнг эса 1:12 ни кўрсатди. Назорат гуруҳидаги эмланмаган итларнинг қон зардобларида эса қутуриш вирусига қарши антителолар ўша муддатларда аниқланмади.

Инфекцион касалликларга қарши шаклланган иммунитетни мустаҳкамлигини аниқлашнинг асосий критерияси (ўлчови, мезони) бу иммунланган ҳайвонни айнан уни шакллантирган қўзғатувчи билан зарарлаш ҳисобланади. Ушбу масалани ҳал қилиш учун фақат ўткир тажрибалар ўтказиш талаб этилади. Бизнинг тадқиқотларимизда иммунитет давомийлигини ўрганиш учун ўткир тажрибалар такомиллаштирилган донатор антирабик вакцина билан эмланган итларда 6 ой, 9 ой ва 12 ойдан кейин ўтказилди.

Такомиллаштирилган донатор антирабик вакцинанинг иммуногенлигини 6 ойдан кейин итлардаги ўткир тажрибаларда синаш натижалари 4-жадвалда ўз аксини топган.

4-жадвал. **Такомиллаштирилган донатор антирабик вакцинанинг иммуногенлигини 6 ойдан кейин итлардаги ўткир тажрибаларда синаш натижалари**

Гуруҳлар	Итлар сони	Бир итга берилган вакцина сони	Вирус билан зарарланган итлар сони	Қутуриб ўлган итлар сони
1-тажриба	4	1	4	0
Назорат	3	-	3	3

Такомиллаштирилган донатор антирабик вакцина билан оғиз орқали эмланган тажрибадаги 1-гуруҳ 4 бош итда вакцинанинг иммунитет давомийлигини аниқлаш мақсадида эмлангандан 6 ой ўтгач, лаборатория титражникида титри $10^{4.6}$ ЛД₅₀ 0,03 мл бўлган қутуриш касаллиги “дала” вируси билан лунжи мушаги орасига 1 мл дозада зарарлантирилди. Ҳар куни тажрибадаги итлар кузатилди. Зарарлантирилгандан 24 кун ўтгандан сўнг 1 бош ва 25 куни 2 бош назорат гуруҳидаги (эмланмаган) итларда қутуриш касаллигининг клиник белгилари кузатилди ва улар қутуриб ўлди, аммо эмланган итлар “дала” вируси “СП-01” билан зарарлантирилгандан 4 ой кун кейин ҳам соғломлигича қолди, яъни қутурмади. Лаборатория шароитида яратилган такомиллаштирилган драже ҳолида тайёрланган донатор антирабик вакцина итларга оғиз орқали 1 марта берилганда вакцинанинг иммуногенлиги 6 ой давомида юқори даражада эканлиги аниқланди.

Тажриба бошланганидан 9 ой ўтгандан кейин, 2-тажриба гуруҳидаги 4 бош донатор антирабик вакцина билан оғиз орқали бир марта эмланган ит ва 3 бош вакцина билан эмланмаган назорат гуруҳидаги итлар вакцинанинг иммунитет давомийлигини аниқлаш мақсадида лаборатория титражникида титри $10^{4.6}$ ЛД₅₀ 0,03 мл бўлган қутуриш касаллиги “дала” вируси билан лунжи мушаги орасига 1 мл дозада зарарлантирилди (5-жадвал). Зарарлантирилгандан 17 кун ўтгандан сўнг 1 бош ва 20 - кун 2 бош назорат гуруҳидаги (эмланмаган) итларда қутуриш касаллигининг клиник белгилари кузатилди ва улар қутуриб ўлди, аммо эмланган итлар “дала” вируси “СП-01” билан зарарлантирилгандан 120 кун кейин ҳам соғломлигича қолди, яъни қутурмади. Лаборатория шароитида яратилган такомиллаштирилган драже ҳолида тайёрланган донатор антирабик вакцина итларга оғиз орқали 1 марта берилганда, вакцинанинг иммуногенлиги 9 ой давомида юқори даражада эканлиги исботланди.

5-жадвал. Такомиллаштирилган донатор антирабик вакцинанинг иммуногенлигини 9 ойдан кейин итлардаги ўткир тажрибаларда синаш натижалари

Гуруҳлар	Итлар сони	Бир итга берилган вакцина сони	Вирус билан зарарланган итлар сони	Қутуриб ўлган итлар сони
2-тажриба	4	1	4	0
Назорат	3	-	3	3

Такомиллаштирилган донатор антирабик вакцинанинг иммуногенлигини 12 ойдан сўнг итларда ўткир тажрибаларда текшириш натижалари 6-жадвалда келтирилган.

6-жадвал. Такомиллаштирилган донатор антирабик вакцинанинг иммуногенлигини 12 ойдан сўнг итларда ўткир тажрибаларда текшириш натижалари

Гуруҳлар	Итлар сони	Бир итга берилган вакцина сони	Вирус билан зарарланган итлар сони	Қутуриб ўлган итлар сони
3-тажриба	4	1	4	0
Назорат	3	-	3	3

Тажриба бошланганидан 1 йил ўтгандан кейин, 3-тажриба гуруҳидаги 4 бош вакцина билан оғиз орқали бир марта эмланган итлар ва 3 бош вакцина билан эмланмаган назорат гуруҳидаги итлар вакцинанинг иммунитет давомийлигини аниқлаш мақсадида лаборатория титражникида титри $10^{4.6}$ ЛД₅₀ 0,03 мл бўлган қутуриш касаллиги “дала” вируси билан лунжи мушаги орасига 1 мл дозада зарарлантирилди. Зарарлантирилгандан 17 кун ўтгандан сўнг 1 бош ва 18-,19- кунлари 1 бошдан, жами 3 бош назорат гуруҳидаги (эмланмаган) итларда қутуриш касаллигининг клиник белгилари кузатилди ва улар қутуриб ўлди, аммо эмланган итлар “дала” вируси “СП-01” билан зарарлантирилгандан 4 ой кейин ҳам соғломлигича қолди, яъни қутурмади. Лаборатория шароитида яратилган такомиллаштирилган драже ҳолида тайёрланган донатор антирабик вакцина итларга оғиз

орқали 1 марта берилганда вакцинанинг иммуногенлиги 12 ой давомида юқори даражада эканлиги аниқланди.

Назорат гуруҳидаги қутурган итларда қутуриш касаллиги фалажлик аломатлари билан кечди. Қутуриб ўлган 3 бош итларнинг миялари олиниб, уларнинг ҳар қайсидан 3 тадан суртма тайёрланди. Суртмалар Селлерс усулида бўялгандан сўнг оддий ёруғ микроскопда 900 марта катталаштирилган ҳолатда кўрилди. Микроскоп остида нерв хужайраларида Бабеш-Негри киритмалари кўрилгани қайд этилди. Назорат гуруҳидаги 3 бош итнинг миясидан алоҳида-алоҳида 10% ли вирусли суспензия тайёрланиб, 7 бошдан жами 21 бош 8-10 граммли оқ сичқон болаларининг бош миясига 0,03 мл миқдорда юбориб, биологик синов қўйилди ва уларда қутуриш тасдиқланди.

НАТИЖАЛАР

Ўтказилган тажрибалар натижасида назорат гуруҳидаги донатор антирабик вакцина берилмаган, яъни эмланмаган барча ит болалари қутуриш вируси билан зарарлантирилгандан 24 ва 25 кун ўтгач қутуриб ўлди. Улардан олинган мия тўқималари билан оқ сичқонларда биосинов ўтказилиб, 100 фоиз ижобий натижа олинди ва тажрибаларнинг ишончли ўтганига яна бир бор ишонч ҳосил қилинди.

Шундай қилиб, такомиллаштирилган драже ҳолида тайёрланган донатор антирабик вакцинанинг безарарлиги ва реактоген эмаслиги, итларга 1 донадан 1 марта оғиз орқали берилганда, уларда иммунитет 20-25 кун давомида шаклланиб, иммунитет давомийлиги 12 ой давом этиши ва фаол сақланиш муддати 6 ой эканлиги ўткир тажрибаларда исботланди.

МУҲОКАМА

Такомиллаштирилган донатор антирабик вакцина берилган (1 донадан) итларнинг қон зардобидаги вирусни нейтралловчи антителалар даражаси тажриба бошлангандан 90 кун ўтгач қутуришга қарши антителалар титри ўртача 1:48 ни (тебраниш чегараси 1:32-1:64), 180 кун ўтгач, аввалги муддатга нисбатан бирмунча пасайгани ва ўртача 1:32 ни (тебраниш чегараси 1:24-1:48), 270 кундан кейин 1:24 ни (тебраниш чегараси 1:16-1:32), 360 кундан кейин эса 1:12 ни (тебраниш чегараси 1:8-1:16) ташкил этгани аниқланди. Ушбу 1:12 титр ҳам итларни қутуриш вирусидан ҳимоя қилиши илмий тадқиботларда исботланди.

ФЙДАЛАНИЛГАН АДАБИЁТЛАР

1. Борисов А.В., Гусева М.Н. Хранение вируса бешенства с различными стабилизаторами // Мат. межд. научно-практ. конф. ВНИИВВиМ. Москва.30-31 мая 2001, -С. 61-63.
2. Гулюкин, А.М. Значимость современных методов лабораторной диагностики и индикации возбудителя бешенства для иммунологического мониторинга данного зооноза // Вопросы вирус.журнал. 2014. № 3, – С. 5–10.
3. Маматова М.Н., Салимов Х.С. Ёввойи ҳайвонлар ва итларни оғиз орқали эмлаш учун донатор антирабик вакцинани олиш таркиби // Патент. ЎзР № IAP 04610 2010. Тошкент. 2010
4. Маматова М.Н., Салимов Х.С. Ёввойи ҳайвон ва итларни оғиз орқали эмлаш учун донатор антирабик вакцина олиш учун таркиб // Ихтиро Патентига тавсиф. ЎзР № IAP 04610. Бюллетен, Тошкент. №12. 2012.1-6-б.
5. Недосеков В.В. Перспективы использования штамма ТС-80 вируса бешенства для пероральной иммунизации животных // Диагностика, профилактика и меры борьбы с

- особо опасными, экзотическими и зооантропонозными болезнями животных: матер. междунар. науч.-практ. конф. Покров, 2000. - С. 88-90.
6. Официальный сайт Всемирной Организации Здравоохранения. 2018. [Эл.ресурс]. Режим доступа: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs099/ru/> 2018.
 7. Жестерев, В.И. Лаптева О.Г. Штаммы вируса бешенства и их практическое значение // Труды меж. науч.-практ. конф. Болезни диких животных. -Покров, 2004. -С. 35-37.
 8. Arai Y.T., Kuzmin I.V., Kameoka Y. New lyssavirus genotypes from the lesser mouse-eared bat (*Myotis blythi*), Kyrgyzstan // *Emerg. Infect. Dis.* 2003. -V. 9. -P. 333-337.
 9. Dean D.J., Abelseh M.K., Atanasiu P. Ed. Meslin F.X., Kaplan M.M., Koprowski.H. The fluorescent antibody test.// *Laboratory Techniques in Rabies.* -4th edn -Geneva: WHO, 1996. - P. 88-93.
 10. International Committee on Taxonomy of Viruses [electronic resource]. URL:<http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>.-13.11.2013. -. 177.
 11. Picard-Meyer E., Bruyere V., Barrat J. [et al.] Development of a hemi-nested RT-PCR method for the specific determination of European bat lyssavirus 1: Comparison with other rabies diagnostic methods // *Vaccine.* - 2004. - Vol. 22. - P. 1921-1929.
 12. Rabies - World Health Organization (WHO). 2020. https://www.who.int/healthtopics/rabies#tab=tab_1.
 13. Terrestrial Animal Health Code Chapter 7.7, 6th Edition. World Organisation for Animal Health (OIE), France, 2017. Available at <http://www.oie.int/en/international-standard-setting/terrestrial-code/accessonline> accessed March 2018.
 14. WHO. 0 by 30 our catalytic response. Available at http://www.who.int/rabies/United_against_Rabies/en/, accessed December 2017.
 15. WHO Expert Consultation on Rabies, third report: WHO Technical Series Report No. 1012, Geneva, (ISBN 978-92-4-121021-8). 2022.
 16. WHO fact sheet on rabies. Available at <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs099/en/>, accessed. 5 Birhane MG. March 2023.