

ЦЕФТАЗИДИМ АНТИБИОТИГИГА ОЛИНГАН АНТИТАНАЛАРНИ ТОЗАЛАШ ВА СЕРОЛОГИК ФАОЛЛИГИНИ АНИҚЛАШ

Ушбу ишда цефтазидим антибиотигига специфик антитана олишининг оптимал шароитлари ўрганилди. Бунда гаптенни матрица билан коволент боғлаб, конъюгат синтез қилинди ва синтезланган конъюгат компонентларининг ўзаро нисбтлари аниқланди. Конъюгат билан ҳайвонлар иммунизация қилиниб, уларнинг қон зардобидан цефтазидим антибиотигига специфик бўлган антитана ажратиб олинди ва тозаланди. Олинган антитаналарнинг серологик фаолликлари аниқланди.

Таянч иборалар: Конъюгат, цефтазидим, антибиотик, специфик антитана, иммуноэнзим таҳлилини ИЭТ, гаптен.

Бугунги кунда Республикамизда сифатли дори воситаларига бўлган эҳтиёж тора ортиб бормокда. Бироқ, Республикамизга кириб келаётган баъзи дори воситаларининг сифати талаб даражада эмаслиги сир эмас. Шу сабабли, аҳолини сифатли дори воситалар билан таъминлаш, ҳамда уларни миқдорий таҳлил қилишда тезкор, сезгир, замонавий усулларни ишлаб чиқиш долзарб муаммолардан бири ҳисобланади.

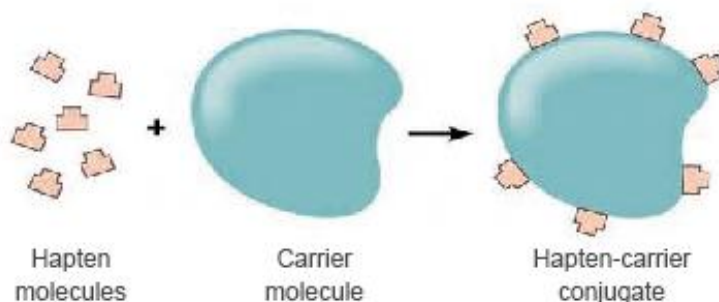
Замонавий, тезкор, юқори аниқликка ва сезгирликка эга таҳлил усулларида бири иммуноэнзим таҳлили (ИЭТ) ҳисобланади.

Маълумки, юқори молекуляр моддалар организмга кирганда антитана ҳосил қилиш хусусиятига эгадир. Бироқ, куйи молекуляр моддалар, яъни гаптенлар организмда антитана ҳосил қилиш қобилиятига эга эмаслар. Ана шундай куйи молекуляр моддаларга антибиотиклардан [1,3] цефтазидимни мисол қилишимиз мумкин. Шу сабабли, айнан ушбу ишда биз цефтазидим антибиотигига специфик антитана олиш технологиясини ва олинган антитанани тозалаш, серологик фаоллигини аниқлашни мақсад қилиб қўйдик.

Натижа. Ишда цефтазидим антибиотигига антитана олиш учун ушбу гаптен асосида конъюгат синтез қилдик. Конъюгат синтез қилиш жараёни 1-расмда тасвирланган.

1-расм

Гаптеннинг макромолекуляр матрица билан ҳосил қилган конъюгати

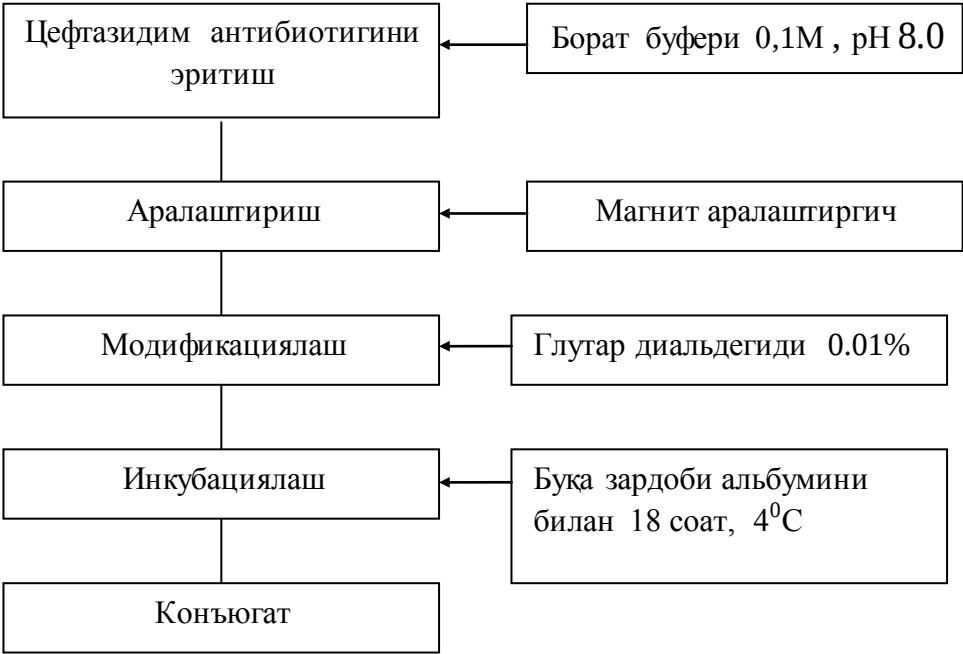


Конъюгат синтезини амалга оширишда макромолекуляр матрица асосида қорамол зардобни альбуминидан (БСА) фойдаландик. Бунинг учун, цефтазидим антибиотигини 0,1 М рН 8,0 бўлган бўлган борат буферида эритдик. Ҳосил бўлган эритмани 0,01% глутар диальдегиди билан 2соат давомида магнит аралаштиргич ёрдамида модификация қилдик. Модификациядан сўнг, ушбу эритмага буқа зардобни альбуминини солдик ва 18

соат давомида 4⁰С ҳароратда инкубация қилдик. Ушбу модификациялаш жараёнининг технологик схемаси 2-расмда келтирилган.

2-расм

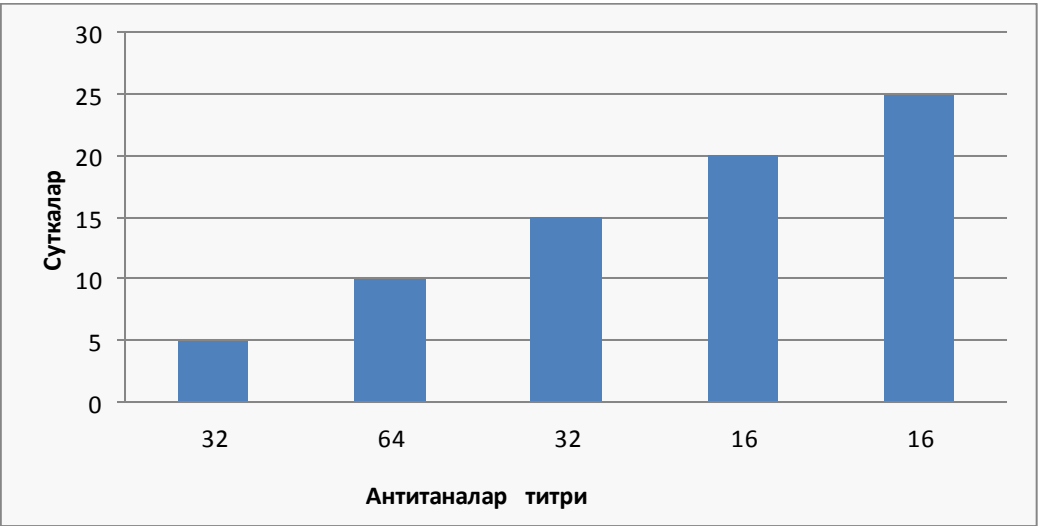
Цефтазидим антибиотигини макромолекуляр матрица асосида модификациялашнинг технологик схемаси



Цефтазидим антибиотигини макромолекуляр матрица асосида синтез қилинган конъюгатлар билан ҳайвон организмини иммунизация қилдик. Иммунизация жараёнида объект сифатида сичқонлардан фойдаландик. Ҳайвон организмига юборилган конъюгатларни специфик антитана ҳосил қилиш динамикаси 20-25 кун давомида ўрганилди. Бунда олинган натижалар 3-расмда кўрсатилган .

3-расм

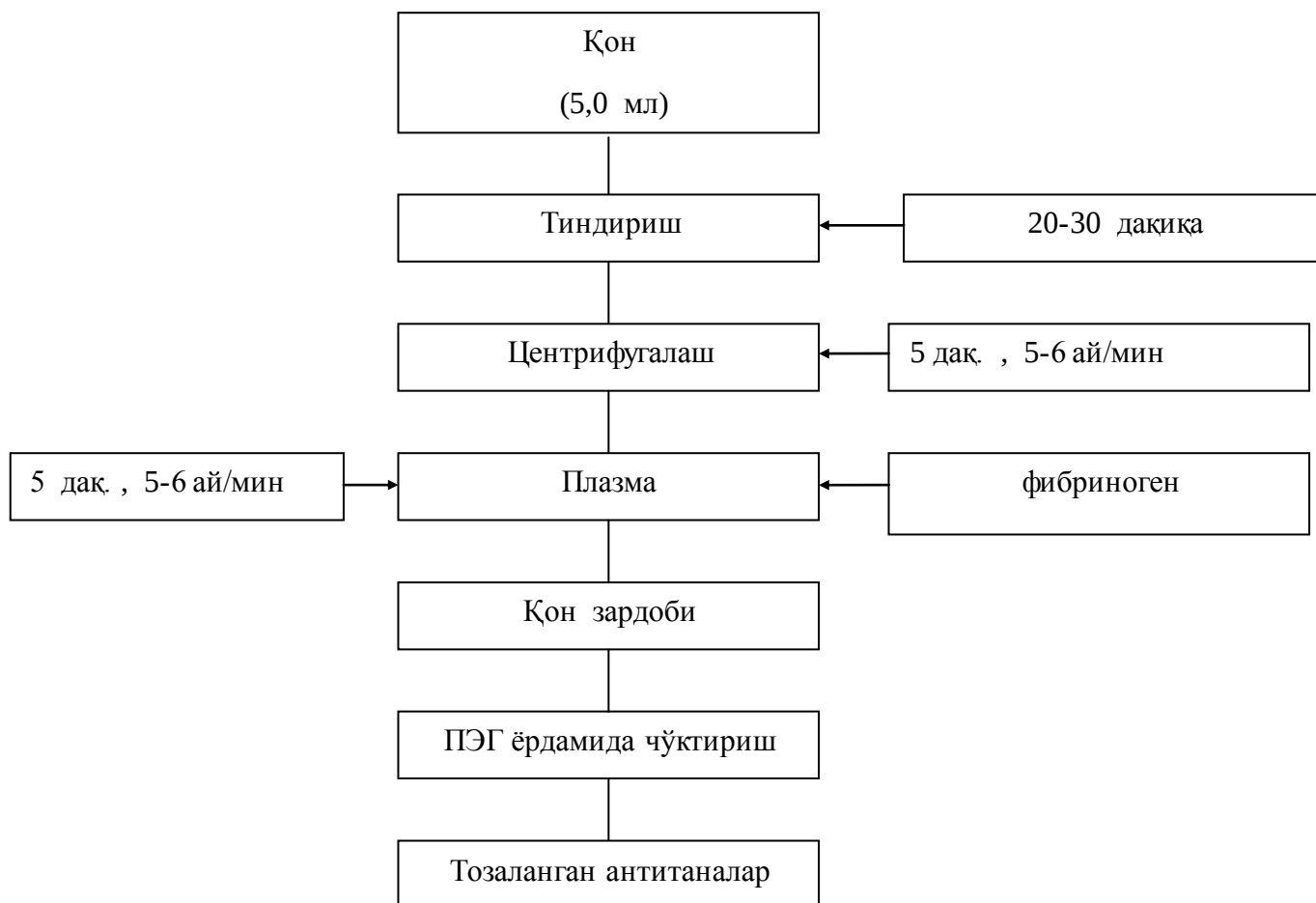
Иммунизация қилинган сичқонларда антитаналар ҳосил бўлиш динамикаси



Олинган натижалардан кўриниб турибдики, иммунизация жараёнининг 10-суткасида сичқон организмда антитаналар ҳосил бўлиши юқори даражада бўлар экан. Иммунизациянинг 15-20 суткаларида эса, антитана ҳосил бўлиш жараёни кескин камаяр экан ва 25 суткада унинг миқдори янада камайиши кузатилди. Ушбу иммунизация жараёни натижасида олинган антитананинг серологик фаолликлари қўшалок иммунодиффузия усулида аниқланганда, уларнинг серологик фаолликлари юқори эмаслиги аниқланди. Шу сабабли, тадқиқотнинг кейинги босқичида, антитаналарни тозалаш жараёнини амалга оширдик. Бунинг учун сичқонлардан ажратиб олинган 5мл миқдордаги қони 30-20 дақиқа тиндирдик. Қон шаклли элементлари қисман ажратилгач, қолган қисми центрифугада 5 дақиқа довомида 5-6 ай/мин центрифугаладик. Супернатант плазма дейилади. Ажратилган плазмага фибриноген қўшиб, уни яна 15 минут довомида 800-1000 ай/мин центрифугаладик. Ҳосил бўлган қон зардобини ПЭГ ёрдамида чўктириб, тоза ҳолдаги антитаналарни ажратиб олдик. Антитаналарнинг тозалаш технологияси 4-расмда келтирилган.

4-расм

Антитаналарнинг тозалаш технологияси



Тозаланган антитаналар серологик фаолликлари тўғри бўлмаган иммуноэнзим таҳлили ёрдамида аниқланди. Сичқонлар қонидан ажратиб олинган антитаналарнинг ҳамда уларнинг тозаланганидан кейинги серологик фаолликлари 1-жадвалда келтирилган.

Иммунизация қилинган суткалар	5-сутка	10-сутка	15-сутка	20-сутка	25-сутка
Антитаналар титри	1:32	1:64	1:32	1:16	1:16
Тозалангандан сўнг антитаналар титри	1:256	1:512	1:256	1:128	1:128

Жадвалдан кўриниб турибдики, иммунизациянинг 5 суткасида сичқон қонидан ажратиб олинган антитаналар титри 1:32 ни, 10 суткада эса антитаналар титри 1:64 га кўтарилганини кўриш мумкин. Кузатишнинг 15 суткасида эса антитаналар титри 1:32 камайиб, 20-25 суткаларда титр кўрсаткичи 1:16 га тушганини аниқладик. Юқорида қайд этилганидек, ажратиб олинган антитаналар тозалангандан сўнг, уларнинг титри 5-суткада 1:256 ни, 10 суткада 1:512 ни, 15 суткада 1:256 ни, ҳамда 20-25 суткаларда эса антитаналар титри 1:128 ни ташкил қилганини кузатдик.

Хулоса. Бундан шундай хулоса қилиш мумкинки, цефтазидим антибиотиғи асосида синтез қилинган конъюгатлар асосида олинган антитаналарни ПЭГ ёрдамида тозалаш юқори специфик антитаналарни олишда муҳим роль ўйнаётган экан.

Шундай қилиб, биз ушбу ишда буқа зардобини альбуминини матрица асосида қўллаб, цефтазидим антибиотиғига юқори серологик фаолликка эга антитаналар олишга мувофиқ бўлдик.