

AMINASIINI BAKTERIOSTAATILISEST TOIMEST MÕNEDE TUBERKULOOSIBAKTERITE TÜVEDELE *IN VITRO*

N. HAUG,

meditsiinikandidaat

V. HARJO

Meie varasemad eksperimentaalsed tööd näitasid, et tuberkuloosikultuuriga nakatatud katseloomadel nõrgenevad aminosüüri manustamise tagajärjel eksudatiivse põletiku nähud ning paraspsiifilised muutused lümfisõlmedes ja siseorganites (Haug, 1961). Seda põhjustab ühelt poolt aminosüüri desensibiliseeriv toime makroorganismile, mis tuleb selgesti esile tuberkuloosikultuuriga infitseeritud katseloomadel (Haug, 1962). Teiselt poolt võib arvata, et aminosüüri avaldab teatavat bakteriostaatilist toimet ka tuberkuloositekitajasse, nagu vihjavad üksikud kirjanduse andmed aminosüüri identsete preparaate (kloorpromasiin, largaktiil) kohta (Geiger, Finkelstein, 1954; Popper, Lorian, 1959; Raffel jt., 1960). Aminosüüri tuberkuloositaatilisuse toime kohta leidsime kirjanduses töö (Квирикадзе, Менделеева, 1959), kus märgitakse, et nimetatud ravimil on tuberkuloositekitajasse nii bakteriostaatiline kui ka bakteritsiidne toime. Üheski senistest töödest pole käsitletud fenotiasiinipreparaatide toimet viimasel ajal väga laialdaselt levinud streptomütsiini- ja ftivasiidiresistentsetesse tuberkuloosibakteritesse. Silmas pidades nii meie töö kompleksuse huve kui ka seda, et mittespsiifilise ravi tähtsus kopsutuberkuloosi kliinikus pidevalt suureneb seoses tuberkuloosibakterite ravimiresistenttsuse väljakujunemisega, otsustasime uurida aminosüüri bakteriostaatilist toimet nii ravimitundlikele kui ka ravimiresistentsetele tuberkuloosibakterite tüvedele *in vitro*.

Tuberkuloosibakterite aminosüüritundlikkuse määrasime nii eelkatsetes kui ka uurimise edasises käigus tahkel Löwensteini-Jenseni söötmel, mis ühtlasi võimaldas katsetulemusi makroskoopiliselt hinnata. Olenevalt uurimise eesmärgist kasutasime kolme tuberkuloosibakterite tüve, nimelt: 1) *Mycobacterium tuberculosis typus humanus* H₃₇R_v, 2) streptomütsiiniresistentset tüve nr. 3318 (streptomütsiinitundlikkus 100 γ; isoleeritud 20. VI 1962 Tallinna Vabariikliku Tuberkuloositõrje Dispanseri bakterioloogia laboratooriumis haige A. O. rõgast), 3) ftivasiidiresistentset tüve nr. 3434 (ftivasiiditundlikkus 90 γ; isoleeritud samas laboratooriumis 17. III 1962 haige P. G. rõgast). Nimetatud tüvede aminosüüritundlikkuse uurimiseks valmistasime söötmete read, mis 1 ml söötmes sisaldasid 200, 300 jne. kuni 1000 γ aminosüüri. Sellise lahjenduste valiku dikteerisid eelkatsete tulemused. Võrdluseks määrasime ka samade tuberkuloosibakterite tüvede streptomütsiini- ja ftivasiiditundlikkuse. *Mycobacterium tuberculosis typus humanus* H₃₇R_v ravimitundlikkuse määramiseks valmistasime söötmete read, millest üks sisaldas 1 ml söötmes 0,1, 0,5, 1,0, 5,0, 10, 15 ja 20 γ streptomütsiini, ning teine — 0,01, 0,05, 0,1, 0,5 ja 1,0 γ ftivasiidi. Streptomütsiiniresistentse tüve tundlikkuse määramiseks valmistasime söötmete rea, mis 1 ml söötmes sisaldas 10, 20 jne. kuni 100 γ streptomüt-

siini; ftivasiidiresistentse tüve tundlikkust uurisime söötmete reas, mille 1 ml söödet sisaldas 10, 20 jne. kuni 90 γ ftivasiidi. Steriilsed ravimilahjendused valmistasime sellised, et söötmele lisatava ravimilahuse hulk ühes katseklaasis oli kõikides ridades 0,5 ml ning söötme ja ravimilahuse koguhulk 5,0 ml. Peale ravimilahuse ja söötme hoolikat segiloksutamist aetasime katseklaasid koagulaatorisse, kus hoidsime neid langesendis 40 minutit 85° C temperatuuris. Tuberkuloosibakterite suspensiooni valmistasime kõigi kolme tüve puhul 2—3 nädala vanusest kultuurist, arvestades 1,0 ml suspensioonile 1,0 mg kultuuri. Nii ravimilahuseid sisaldavatele söötmetele kui ka kontrollsöötmetele külvasime pipeti abil 0,1 ml suspensiooni (0,1 mg niiske kultuuri). Seejärel sulgesime katseklaasid parafineeritud puuvillakorgiga ja aetasime termostaati, kus hoidsime neid langesendis kogu katseperioodi vältel 37° C temperatuuris.

Katsetulemusi jälgisime viie nädala jooksul. Tuberkuloosibakterite kasvu hindasime kolooniate arvu, kasvu intensiivsuse ja kasvu ulatuse järgi. Töö tulemuste hindamiseks ja analüüsi hõlbustamiseks kasutasime indeksit, et iseloomustada arvuliselt tuberkuloosibakterite kasvu ja selle intensiivsust. Indeksid arvutasime välja Teras, Laane ja Rõigase (1960) poolt kasutatud süsteemi järgi, mis arvestab tuberkuloosibakterite makroskoopiliselt sedastatava kasvu algust ja edaspidist kasvu intensiivsust.

Katsetulemustest selgus, et aminasiinil on meie poolt kasutatud lahjendustes tuberkuloostaatiline toime, mis kinnitas meie eelkatsete tulemusi. 400 γ aminasiini 1 ml söötmes avaldas tuberkuloosibakteritesse väga nõrka kasvupidurdavat toimet, kuid juba 500 γ aminasiini toime oli tugevam, mille tõttu makroskoopiliselt märgatav bakterite kasv tekkis hiljem ning selle intensiivsus oli tunduvalt nõrgem kui kontrollsöötmetel. Lahjendused 600—700 γ aminasiini avaldasid tugevat kasvupidurdavat toimet ning alates lahjendusest 800 γ ei täheldanud me vaatlusperioodil enam tuberkuloosibakterite kasvu. Täielik bakteriostaatiline toime, nagu oli lahjendusel 800 γ aminasiini, avaldus kontrollkatsetel streptomütsiiniga lahjenduses 15 γ . Meie poolt kasutatud kõige väiksem ftivasiidi lahjendus (1 γ ftivasiidi 1 ml söötmes) aga võimaldas 4. ja 5. nädalal veel üksikute kolooniate tekkimist, mille kasvuideks oli samasugune kui aminasiini puhul lahjenduses 700 γ . Seega võib öelda, et aminasiin avaldab *Mycobacterium tuberculosis typus humanus* H₃₇R_v suhtes tunduvalt bakteriostaatilist toimet, mis on umbes 55 korda nõrgem kui streptomütsiinil ja umbes 700 korda nõrgem kui ftivasiidil nimetatud tüvele *in vitro*.

Streptomütsiiniresistentse ja ftivasiidiresistentse tüve aminasiinitundlikkuse määramiseks kasutasime samasuguseid aminasiinilahjendusi kui tüve H₃₇R_v puhul. Nagu katsetulemused näitasid, avaldab aminasiin ka streptomütsiiniresistentsele tüvele bakteriostaatilist toimet, kusjuures aminasiini kontsentratsioon peab aga olema mõnevõrra tugevam kui tüve H₃₇R_v puhul. Nõrka kasvupidurdust täheldasime lahjendusel 600 γ aminasiini 1 ml söötmes; 700—800 γ aminasiini pärssis tugevasti streptomütsiiniresistentsete tuberkuloosibakterite kasvu, kuid täielik tuberkuloostaatiline toime oli lahjendusel 900 γ aminasiini. Võrdluseks tehtud külvid streptomütsiini sisaldavale söötmele näitasid, et streptomütsiin lahjenduses 10—100 γ 1 ml söötmes ei avaldanud veel mingisugust tuberkuloostaatilist mõju kõnesoleva tüve kasvule. Seega aminasiin lahjenduses 900 γ /ml pidurdas täielikult streptomütsiiniresistentse tuberkuloosibakterite tüve kasvu, kuna streptomütsiin lahjenduses 100 γ /ml mingisugust kasvupidurdavat toimet ei avaldanud. Kui tüve H₃₇R_v aminasiinitundlikkus oli umbes 55 korda nõrgem kui streptomütsiinitundlikkus, siis meie poolt kasutatud streptomütsiiniresistentse tüve aminasiinitundlikkus oli umbes 8 korda nõrgem tema streptomütsiinitundlikkusest.

Aminasiini tuberkuloostaatiline toime ilmnes selgesti ka ftivasiidiresistentse tuberkuloosibakterite tüve puhul, kuid nõrgemini kui tüve $H_{37}R_v$ ja streptomüsiiniresistentse tüve juures. Nõrk kasvupidurdav toime oli lahjendusel 500 γ aminasiini 1 ml söötmes, kuid tugevat kasvupidurdust näitasid lahjendused 600—700 γ aminasiini. Seevastu lahjendused 800, 900 ja 1000 γ aminasiini, mis tüve $H_{37}R_v$ puhul täielikult ja streptomüsiiniresistentse tüve puhul alates lahjendusest 900 γ samuti täielikult pärssisid tuberkuloosibakterite kasvu, võimaldasid seda ftivasiidiresistentse tüve puhul veel 3., 4. ja 5. vaatlusnädalal, kuigi nõrgalt. Võrdluskatsed ftivasiidiga näitasid, et 10—50 γ ftivasiidi 1 ml söötmes ei avaldanud sellele tüvele mingisugust tuberkuloostaatilist toimet ja bakterite kasv oli samasugune kui kontrollsöötmetel. Nõrk kasvupidurdus ilmnes ftivasiidiresistentse tüve puhul lahjenduses 60 γ ftivasiidi, märgatavat kasvupidurdust täheldasime lahjenduses 70—80 γ ja tugevat kasvupidurdust lahjenduses 90 γ ftivasiidi. Seega avaldas aminasiin lahjenduses 800—1000 γ /ml enamvähem niisama tugevat tuberkuloostaatilist toimet ftivasiidiresistentsele tüvele kui ftivasiid lahjenduses 90 γ . Tuberkuloosibakterite tüve $H_{37}R_v$ aminasiinitundlikkus oli umbes 700 korda nõrgem kui ftivasiiditundlikkus, ftivasiidiresistentse tüve aminasiinitundlikkus aga umbes 10 korda nõrgem kui ftivasiiditundlikkus.

Meie uurimistulemused tuberkuloosibakteri tüve $H_{37}R_v$ aminasiinitundlikkuse kohta erinevad kirjanduses avaldatud andmetest. V. Kvirikadze ja M. Mendelejeva (Квирикадзе, Менделеева, 1959) täheldasid aminasiini bakteriostaatilist toimet tuberkuloosikepikesesse juba lahjenduses 250—350 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ja bakteriitsidset toimet lahjenduses 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Raffel jt. (1960), kes uurisid kloorpromasiini toimet tüvele $H_{37}R_v$, leidsid, et juba lahjenduses 5 γ /ml avaldas kloorpromasiin bakteriostaatilist ja lahjenduses 10 γ /ml — bakteriitsidset toimet. Popperi ja Loriani (1959) andmetel on kloorpromasiin bakteriostaatilise toimega lahjenduses 250 γ /ml. Lahkuminekuud mitmete autorite tööde tulemustes on osalt tingitud erineva meetodika ning erinevate tüvede ja ravimipreparaatide kasutamisest. Kuid ka ühe ja sama preparaadi kasutamisel, nagu eespool toodud andmed näitavad, on tulemused erinevad ja seda küllalt suurtes piirides. On tõenäoline, et Spitz ja Levit (1956) ei saanud 127 erineva tuberkuloosibakterite tüve uurimisel sedastada largaktiili tuberkuloostaatilist toimet seetõttu, et kõige madalama largaktiili lahjendusena kasutasid nad 20 γ /ml.

Kirjanduses ei leidunud andmeid fenotiasiinipreparaatide toime kohta ravimiresistentsetele tuberkuloosibakterite tüvedele. Käesoleva töö tulemused näitavad, et streptomüsiini ja ftivasiidi suhtes resistentseks muutunud tuberkuloosibakterite aminasiinitundlikkus ei ole oluliselt nõrgem ravim tundlike tüvede aminasiinitundlikkusest. Seetõttu on võimalik, et nende haigete juures, kellel on välja kujunenud ravimiresistentsus spetsiifilistele antibakteriaalsetele preparaatidele, annab kompleksne ravi aminasiini ja streptomüsiiniga (*resp.* ftivasiidiga) tunduvalt paremaid tulemusi kui ainult spetsiifiliste tuberkuloostaatiliste preparaatide kasutamine. Nimetatud preparaatide kompleksne tuberkuloostaatiline toime ravimiresistentsetele tuberkuloosibakterite tüvedele vajab veel edaspidist uurimist.

Järeldused

1. Aminasiin avaldab tugevat bakteriostaatilist toimet *Mycobacterium tuberculosis typus humanus* $H_{37}R_v$ suhtes lahjenduses 600—700 γ /ml ja täielikku tuberkuloostaatilist toimet alates lahjendusest 800 γ /ml.
2. Aminasiini tuberkuloostaatiline toime tuleb selgelt esile ka strepto-

mütsiini- ja ftivasiidiresistentsete tuberkuloosibakterite tüvede suhtes, kusjuures selleks vajalik aminasiini kontsentratsioon peab olema mõnevõrra suurem kui tüve H₃₇R_v puhul.

KIRJANDUS

- Geiger H., Finkelstein B. A. Largactil in der Behandlung der Tuberkulose Schweiz. med. Wochenschr., 1954, Jg. 84, Nr. 37, 1063—1064.
- Haug N. Aminasiini mõjust eksperimentaalse tuberkuloosi kulule. ENSV TA Toimet. Biol. Seeria, 1961, nr. 2, 91—99.
- Haug N. Narkoosi mõjust spetsiifilisele allergilisele reaktsioonile tuberkuloosibakterite kultuuriga nakatatud merisigadel. ENSV TA Toimet. Biol. Seeria, 1962, nr. 4, 255—261.
- Popper M., Lorian V. L'action de la chlorpromazine sur les microbes et le complexe bactériostatique «in vitro». Presse méd., 1959, 67, 6, 212.
- Raffel S., Kochan I., Poland N., Hollister L. The action of chlorpromazine upon *Mycobacterium tuberculosis*. Amer. Rev. Respiratory Diseases, 1960, vol. 81, No. 4, 555—561.
- Spitz H., Levit R. Zur Frage der Wirkung des Largactil auf *M. tuberculosis*. Schweiz. med. Wochenschr., 1956, Jg. 86, Nr. 30, 869.
- Teras J., Laan I., Rõigas E. Mõningate desensibiliseerivate ainete toimest *Mycobacterium tuberculosis*'ele. Tallinn, 1960 (käsikiri).
- Квиркадзе В. В., Менделеева М. А. К вопросу об антибактериальном действии аминазина. Сообщ. I. Ж. невропатол. и психиатрии, 1959, т. 59, вып. 5, 575—580.

Eesti NSV Teaduste Akadeemia
Eksperimentaalse ja Kliinilise Meditsiini Instituut

Saabus toimetusse
13. III 1963

О БАКТЕРИОСТАТИЧЕСКОМ ДЕЙСТВИИ АМИНАЗИНА НА НЕКОТОРЫЕ ШТАММЫ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУБЕРКУЛЕЗА *IN VITRO*

Н. Хауг,

кандидат медицинских наук

В. Харьо

Резюме

Авторами исследовалось действие аминазина на *Mycobacterium tuberculosis typus humanus* H₃₇R_v и на стрептомицин- и фтивазидоустойчивые штаммы возбудителя туберкулеза *in vitro*. Аминазин оказывал выраженное туберкулостатическое действие на *Mycobacterium tuberculosis typus humanus* H₃₇R_v в разведении 600—800 γ/мл и на стрептомицин- и фтивазидоустойчивые штаммы в разведении 700—1000 γ/мл.

Институт экспериментальной и клинической медицины
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
13. III 1963

ABOUT THE BACTERIOSTATIC ACTION OF AMINASINE ON SOME STRAINS OF TUBERCLE BACILLI *IN VITRO*

N. Haug, V. Harjo

Summary

The bacteriostatic action of aminasine on *Mycobacterium tuberculosis typus humanus* H₃₇R_v and on tubercle bacilli resistant to antibacterial drugs has been studied. A well pronounced tuberculostatic effect of aminasine was noticed on *Mycobacterium tuberculosis typus humanus* H₃₇R_v in a concentration 600—800 γ/ml of aminasine and on tubercle bacilli which were resistant to streptomycine or phthivazidum in a concentration 700—1000 γ/ml of aminasine.

Academy of Sciences of the Estonian S.S.R.,
Institute of Experimental and Clinical Medicine

Received
March 13th, 1963