

AMINASIINI KOMPLEKSSEST TUBERKULOSTAATILISEST TOIMEST STREPTOMÜTSIINIGA VÕI FTIVASIIDIGA MÖNEDELE TUBERKULOOSIBAKTERITE TÜVEDELE *IN VITRO*

N. HAUG,
meditsiinikandidaat

V. HARJO

Aminasiin, nagu katsetega kindlaks tegime (Haug, Harjo, 1963), avaldab märgatavat bakteriostaatilist toimet nii ravimitundlikesse kui ka ravimiresistentsetesse tuberkuloosibakteritesse *in vitro*. Seejuures ei ole streptomütsiini- või ftivasiidiresistentsete tuberkuloosibakterite tüvede aminasiinitundlikkus oluliselt nõrgem ravimitundlike tüvede omast. Nende andmete alusel võib oletada, et haigetel, kellel spetsiifilistele antibakteriaalsetele preparaatidele on välja kujunenud ravimiresistentsus, annab kompleksne ravi aminasiini ja streptomütsiiniga (*resp.* ftivasiidiga) paremaid tulemusi kui ravi ainult spetsiifiliste tuberkuloosivastaste vahenditega. Tähendatud oletus vajas kinnitust, milleks uurisime aminasiini ja streptomütsiini ning aminasiini ja ftivasiidi kompleksset toimet ravimiresistentsetele tuberkuloosibakterite tüvedele *in vitro*. Vördluseks tegime analoogilisi katseid ka ühe ravimitundliku tuberkuloosibakterite tüvega.

Töö teostasime sama metoodika alusel, mida oleme kirjeldanud juba varem (Haug, Harjo, 1963). Erinevusena nimetatud tööst valmistasime aminasiinilahused künnes lahjenduses 100, 200 jne. kuni 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$, nagu see on toodud tabelites 1—4.

Katsetulemusi jälgisime viie nädala jooksul. Tuberkuloosibakterite kasvu hindasime kolooniate arvu, kasvu intensiivsuse ja kasvu ulatuse järgi. Töö tulemuste hindamiseks ja analüüs hõlbustamiseks kasutasime indeksit, et iseloomustada arvuliselt tuberkuloosibakterite kasvu ja selle intensiivsust. Indeksid arvutasime välja Terase, Laane ja Rõigase (1960) poolt kasutatud süsteemi järgi, mis arvestab tuberkuloosibakterite makroskoopiliselt sedastatava kasvu algust ja edaspidist kasvu intensiivsust. Kokkuleppeliselt hindasime esimesel nädalal tuberkuloosibakterite ühe plussiga tähistatud kasvu indeksiga 0,5, kusjuures indeks iga järgneva nädalaga vähenes 0,1 võrra. Sellele põhiindeksile liitsime tuberkuloosibakterite kasvu intensiivsust iseloomustava lisaindeksi. Viimase suurus oli kahe plussiga märgitud kasvu korral 0,5, kolme plussiga märgitud kasvu korral 1,0 ja nelja plussiga märgitud kasvu korral 1,5. Nagu põhiindeksi arvutamisel, nii ka lisaindeksi puhul arvestasime seda, millisel nädalal oli tuberkuloosibakterite kahe, kolme või nelja plussiga tähistatud kasv esmakordelt täheldatav, ning vastav lisaindeks vähenes iga nädalaga samuti 0,1 võrra. Lõpliku indeksi, mis iseloomustas tuberkuloosibakterite kasvu, moodustas põhiindeksi ja köikide lisaindeksite summa. Näiteks kontrollsöötmetel tekkis ühe plussiga tähistatav kasv esimesel nädalal (põhiindeks 0,5). Kahe plussiga tähistatav kasv esines teisel nädalal (esimene lisaindeks 0,4), kolme plussiga tähistatav kasv — kolmandal nädalal (teine lisaindeks 0,8) ja nelja plussiga tähistatav kasv neljandal nädalal (kolmas lisaindeks 1,2). Seega oli tuberkuloosibakterite kasvuindeks kontrollsöötmetel 2,9. Indeksid 0,1—0,9 hindasime tugevaks bakteriostaatiliseks toimeks, 1,0—1,9 tunduvaks (keskmise tugevusega) bakteriostaatiliseks toimeks ja 2,0—2,8 nõrgaks bakteriostaatiliseks toimeks. Tabelites nulliga tähistatud juhtudel puudus kasv üldse, mida hindasime täielikuks bakteriostaatiliseks toimeks.

Katsetulemused streptomütsiini ja aminasiini kompleksse bakteriostaatilise toime kohta tuberkuloosibakterite tüvele H₃₇R_v esitame tabelis 1.

Tabel 1

Mycobacterium tuberculosis typus humanus H₃₇R_v kasvuindeksid streptomütsiini ja aminasiini kompleksse toime puhul *in vitro*

Aminasiin, γ Strepto- mütsiin, γ	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
0,1	2,9	2,9	2,9	2,7	1,1	0,3	0,1	0	0	0
0,5	2,9	2,5	2,5	1,2	0,4	0	0	0	0	0
1,0	1,6	1,4	0,6	0,4	0,2	0	0	0	0	0
5,0	0,1	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0
10,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
20,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Toodud andmetest nähtub, et aminasiini juuresolekul avaldab streptomütsiin kõikide meie poolt kasutatud lajhendustele puhul kas nõrka, tunduvat, tugevat või täielikku tuberkulostaatilist toimet, olenevalt streptomütsiini ja lisandatud aminasiini lajhendusest. Nii puudus tuberkuloosibakterite kasv vaadeldud ajavahemikul järgmiste streptomütsiini- ja aminasiinianustega koostöitel: 0,1 γ streptomütsiini + 800 γ aminasiini, 0,5 γ streptomütsiini + 600 γ aminasiini, 1 γ streptomütsiini + 600 γ aminasiini, 5 γ streptomütsiini + 300 γ aminasiini ning 10 γ streptomütsiini + 100 γ aminasiini. Tugev kasvupidurdus esines järgmiste lajhendustele puhul: 0,1 γ streptomütsiini + 600 γ aminasiini, 0,5 γ streptomütsiini + 500 γ aminasiini, 1 γ streptomütsiini + 300 γ aminasiini, 5 γ streptomütsiini + 100 γ aminasiini. Tunduvat kasvupidurdust täheldasime järgmiste lajhendustele koostöitel: 0,1 γ streptomütsiini + 500 γ aminasiini, 0,5 γ streptomütsiini + 400 γ aminasiini, 1 γ streptomütsiini + 100 γ aminasiini.

Streptomütsiini üksi, nagu näitasid meie eelmised katsed (Haug, Harjo, 1963), ei avaldanud lajhenduses 0,1 γ/ml mingisugust bakteriostaatilist toimet tuberkuloosibakterite tüvele *H₃₇R_v* ja kasvuindeks oli sama mis kontrollsöötmetel. Tugevat bakteriostaatilist mõju täheldasime alles lajhenduse 5 γ puhul ja täielikku bakteriostaatilist mõju — alates lajhendusest 15 γ streptomütsiini 1 ml söötmes. Seevastu käesolevas töös avaldas streptomütsiini lajhendus 0,1 γ/ml 500 γ aminasiini juuresolekul tunduvat, 600 γ aminasiini juuresolekul tugevat ja 800 γ aminasiini juuresolekul täielikku tuberkulostaatilist toimet.

Analoogilisi toime tulemusi tuberkuloosibakterite tüvele *H₃₇R_v* saime ka ftivasiidi ja aminasiini komplekssel kasutamisel. Tabelist 2 nähtub, et ftivasiidi lajhendused 0,01, 0,05 ja 0,1 γ/ml koos aminasiiniga lajhenduses 700 γ/ml avaldasid täielikku bakteriostaatilist toimet, koos aminasiiniga lajhenduses 300—500 γ/ml tugevat ning koos aminasiiniga lajhenduses 100—400 γ/ml tunduvat bakteriostaatilist toimet.

Võrdlusaks märgime, et ftivasiid üksi ülalnimetatud lajhendustes ei pidurdanud meie eelmistes katsetes oluliselt tuberkuloosibakterite kasvu (indeksid 2,7—2,9). Ftivasiidi lajhendused 0,5 γ/ml ja 1,0 γ/ml, mis meie eelmistes katsetes avaldasid tugevat kasvupidurdavat toimet, pärssisid aminasiini juuresolekul lajhenduses 400—500 γ/ml tuberkuloosibakterite kasvu täielikult. Seega avaldas ftivasiid lajhenduses 0,01 γ/ml koos aminasiiniga (700 γ/ml) tugevamat tuberkulostaatilist toimet kui ftivasiid üksi lajhenduses 1,0 γ/ml.

Tabel 2

Mycobacterium tuberculosis typus humanus H₃₇R_v kasvuindeksid ftivasiidi ja aminasiini kompleksse toime puhul *in vitro*

Aminasiin, γ	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
Ftivasiidi, γ \	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
0,01	2,8	2,8	2,7	1,3	0,4	0,2	0	0	0	0
0,05	2,8	2,8	1,4	0,6	0,3	0,1	0	0	0	0
0,1	1,3	1,3	0,6	0,4	0,2	0,1	0	0	0	0
0,5	0,4	0,4	0,3	0,2	0	0	0	0	0	0
1,0	0,2	0,2	0,1	0	0	0	0	0	0	0

Esitatud andmetest selgub, et koos aminasiiniga tugevneb streptomütsiini ja ftivasiidi tuberkulostaatiline toime tuberkuloosibakterite tüvele *H₃₇R_v* *in vitro* tunduvalt, pidurdades tuberkuloosibakterite kasvu täielikult juba sellistes lahjendustes, mis ilma aminasiinita mingisugust tuberkulostaatilist toimet ei avaldanud. Mida kõrgem on streptomütsiini (*resp.* ftivasiidi) kontsentratsioon, seda väiksemas annuses tuleb lisandada aminasiini, et pidurdada tuberkuloosibakterite kasvu nõргalt, tunduvalt, tugevasti või täielikult.

Streptomütsiiniresistentne tüvi nr. 3318 oli streptomütsiini suhtes kõrge resistentsusega. Streptomütsiini lahjendused 10—100 γ/ml ei avaldanud sellele tüvele mingisugust bakteriostaatilist toimet ja kasvuindeks kõikide lahjenduste puhul oli sama mis kontrollsöötmel. Aminasiin üks avaldas nimetatud tüvele täielikku tuberkulostaatilist toimet lahjenduses 900 γ/ml ja tugevat tuberkulostaatilist toimet lahjenduses 700—800 γ/ml. Võrreltes neid andmeid tabelis 3 esitatud tulemustega streptomütsiini ja aminasiini kompleksse toime kohta, näeme, et see oli märgatavalt tugevam mitte ainult streptomütsiini omast, vaid enamiku lahjenduste puhul ka aminasiini bakteriostaatilisest toimest. Täielikku kasvupidurdust kogu vaatlusperioodi välitel tähendasime streptomütsiini kõikide kontsentratsioonide puhul aminasiini juuresolekul lahjenduses 1000 γ/ml ja enamiku streptomütsiini kontsentratsioonide puhul aminasiini juuresolekul lahjenduses 800—900 γ/ml. Valdag osa streptomütsiini kõikidest lahjendustest avaldas koos 400—700 γ aminasiiniga tunduvat või tugevat bakteriostaatilist toimet, mis streptomütsiini lahjenduste 80—100 γ/ml puhul tuli esile juba 100—300 γ aminasiini juuresolekul 1 ml söötmes.

Tabel 3

Streptomütsiiniresistentsete tuberkuloosibakterite (tüvi nr. 3318) kasvuindeksid streptomütsiini ja aminasiini kompleksse toime puhul *in vitro*

Aminasiin, γ	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
Strepto- mütsiini, γ \	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
10	2,9	2,9	2,8	2,7	2,6	0,7	0,3	0	0,1	0
20	2,9	2,9	2,9	2,8	2,7	1,5	0,3	0,1	0	0
30	2,9	2,9	2,9	2,9	2,7	2,6	1,1	0,3	0,1	0
40	2,9	2,9	2,9	2,8	1,6	1,5	0,3	0,1	0	0
50	2,9	2,9	2,7	1,6	1,4	1,2	0,4	0,1	0	0
60	2,7	2,7	2,6	1,4	0,6	0,5	0,3	0	0	0
70	2,7	2,7	2,6	1,4	0,5	0,4	0,3	0	0	0
80	2,8	1,5	1,4	0,8	0,3	0,3	0,2	0	0	0
90	1,6	1,6	1,5	0,7	0,6	0,3	0,1	0	0	0
100	0,8	0,8	0,5	0,5	0,3	0,2	0,2	0	0	0

Eespool toodust selgub, et aminasiini juuresolekul avaldab streptomütsiini selgelt väljendunud tuberkulostaatilist toimet streptomütsiiniresistentsele tuberkuloosibakterite tüvele nendes kontsentratsioonides, milles streptomütsiini toimel üksi mingisugust kasvupidurdust ei tähdeldatud. Aminasiiniannused, mis kompleksselt kasutatuna toimisid bakteriostaatiliselt, olid antud juhul mõnevõrra suuremad kui ravimitundliku tüve $H_{37}R_v$ puhul. Nagu tuberkuloosibakterite tüve $H_{37}R_v$ puhul, ilmnes ka streptomütsiiniresistentse tüve puhul üldine seaduspärasus: mida kõrgem oli streptomütsiini kontsentratsioon, seda väiksemas annuses tuli tuberkulostaatilise toime esiletulekuks lisandada aminasiini. Kuid, nagu nähtub tabelist 3, ei tulnud see streptomütsiiniresistentse tüve juures nii järjekindlalt ja korrapäraselt esile kui tüve $H_{37}R_v$ puhul. Nii oli streptomütsiiniresistentsete tuberkuloosibakterite kasv' aminasiini ja streptomütsiini koostoimel mõnede kõrgemate streptomütsiini lahjenduste puhul niisama intensiivne või isegi intensiivsem kui ainult aminasiini vastavate lahjenduste puhul (streptomütsiini 30 γ/ml + aminasiini 600—900 γ/ml, streptomütsiini 10 γ/ml + aminasiini 900 γ/ml). Selle põhjuseks töenäoliselt on streptomütsiini soodustav toime tuberkuloosibakterite kasvule teatavaais streptomütsiini kontsentratsioonides, mida streptomütsiiniresistentsete tüvede puhul on ka varem tähdeldatud (Рабухин, 1960; Cepreeb, 1956 jt.).

Meie poolt uuritud ftivasiidi-resistantse tuberkuloosibakterite tüve nr. 3434 aminasiinitundlikkus, nagu näitasid eelmised katsed, oli mõnevõrra madalam kui tüvel $H_{37}R_v$ ja streptomütsiiniresistentset tüvel nr. 3318. Ükski meie poolt kasutatud ftivasiidi- ja aminasiinilahjendus ei avaldanud nimetatud ftivasiidi-resistantsele tüvele täielikku tuberkulostaatilist toimet.

Tabelist 4 nähtub, et ftivasiidi ja aminasiini komplekssel kasutamisel ilmnes valdava osa lahjenduste puhul täielik, tugev või tuniduv tuberkulostaatiline toime ülaltähendatud tüvele. Tuberkuloosibakterite kasv puudus täielikult järgmiste ftivasiidi ja aminasiini lahjenduste koostoimel: 30 γ/ml ftivasiidi + 1000 γ/ml aminasiini, 40 γ/ml ftivasiidi + 800 γ/ml aminasiini, 60 γ/ml ftivasiidi + 800 γ/ml aminasiini, 70 γ/ml ftivasiidi + 700 γ/ml aminasiini, 80—90 γ/ml ftivasiidi + 400 γ/ml aminasiini.

Tabel 4

Ftivasiidi-resistantsete tuberkuloosibakterite (tüvi nr. 3434) kasvuindeksid ftivasiidi ja aminasiini kompleksse toime puhul *in vitro*

Aminasiin, γ	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
Ftivasiid, γ										
10	2,9	2,9	2,8	2,4	1,4	0,7	0,5	0,2	0,3	0,1
20	2,9	2,9	2,7	1,4	1,3	0,5	0,3	0,2	0,2	0,1
30	2,9	2,8	1,5	1,5	0,5	0,5	0,5	0,1	0,1	0
40	2,5	1,4	1,4	1,2	0,6	0,6	0,1	0	0	0
50	1,4	1,4	0,6	0,6	0,5	0	0	0,1	0	0
60	1,2	1,2	0,5	0,5	0,5	0,2	0,1	0	0	0
70	1,1	0,5	0,5	0,3	0,2	0,2	0	0	0	0
80	0,3	0,4	0,3	0	0	0	0	0	0	0
90	0,3	0,3	0,2	0	0	0	0	0	0	0

Seega avaldasid ftivasiid ja aminasiin kompleksselt kasutatuna täielikku tuberkulostaatilist toimet ftivasiidi-resistantsete tuberkuloosibakterite tüvele nendes lahjendustes, milles ei üks ega teine eraldi ei põhjustanud veel mingisugust kasvupidurdust. Ftivasiid üksi lahjenduses 40 γ/ml ei

avaldanud mingisugust tuberkulostaatilist toimet, kuid koos aminasiiniga lajhenduses 800 γ/ml pidurdas ta täielikult tuberkuloosibakterite kasvu. Samuti ei avaldanud aminasiin lajhenduses 400 γ/ml mingisugust tuberkulostaatilist toimet, kuid koos ftivasiidiiga lajhenduses 80 γ/ml kutsus ta esile täieliku kasvupidurduse. Eespool toodust nähtub, et aminasiini juuresolekul tõuseb ftivasiidi-resistantse tuberkuloosibakterite tüve ftivasiiditundlikkus tunduvalt ja vastupidi — ftivasiidi juuresolekul tõuseb nimetatud tüve aminasiinitundlikkus. Nagu tuberkuloosibakterite tüve H₃₇R_V ja streptomütsiini-resistantse tüve juures, nii ka ftivasiidi-resistantse tüve puhul tuli selgelt esile seaduspärasus, mille järgi tugevama tuberkulostaatilise toime esiletulekuks vajati aminasiini seda suuremal hulgal, mida nõrgem oli spetsiifilise antibakteriaalse preparaadi kontsentratsioon. Oluline on märkida veel seda, et ftivasiidi ja aminasiin koos avaldavad tugevat tuberkulostaatilist toimet ftivasiidi-resistantsele tüvele ka nendes lajhendustes, milles kumbki ravimeist eraldi ei oma kasvupidurdavat möju tuberkuloosibakteritele. Nii ei täheldanud me eelmistes katsetes ei ftivasiidi, lajhenduses 50 γ/ml, ega aminasiini, lajhenduses 400 γ/ml, kasutamisel mingisugust kasvupidurdust: kasvuindeks neil juhtudel oli sama mis kontrollsöötmetel. Nende ravimite koostoimel samasugustes lajhendustes esines aga tugev tuberkuloosibakterite kasvu pidurdus (kasvuindeks 0,6).

Käesoleva töö tulemused näitavad, et aminasiini juuresolekul streptomütsiini ja ftivasiidi tuberkulostaatiline toime *in vitro* märgatavalalt tugevneb. Olenevalt juurdelisatava aminasiini lajhendusest, võib streptomütsiini (*resp.* ftivasiidi) avaldada kas nõrka, tunduvat, tugevat või täielikku tuberkulostaatilist toimet juba nendes kontsentratsioonides, mis ilma aminasiinita veel mingisugust tuberkuloosibakterite kasvu pidurdust esile ei kutsu. Tuberkulosi kliinikus omab erilist tähtsust see, et kirjeldatud aminasiini toime tuleb esile mitte ainult ravimitundlikel tuberkuloosibakterite tüvedel, vaid ka streptomütsiini või ftivasiidi suhtes resistantseks muutunud tuberkuloosibakterite tüvedel. Seega peaks aminasiini ja spetsiifiliste antibakteriaalsete preparaatide komplekssel kasutamisel olema võimalik tunduvalt tõsta raviefektiivsust nende haigete juures, kellel on välja kujunenud ravimiresistentsus streptomütsiini või ftivasiidi suhtes.

Järeldused

1. Aminasiini juuresolekul tugevneb streptomütsiini ja ftivasiidi tuberkulostaatiline toime tunduvalt, pidurdades tuberkuloosibakterite kasvu *in vitro* täielikult juba sellistes lajhendustes, mis ilma aminasiinita mingisugust tuberkulostaatilist möju ei avaldanud.
2. Mida suurem on streptomütsiini või ftivasiidi kontsentratsioon, seda väiksemas annuses tuleb lisandada aminasiini, et pidurdada tuberkuloosibakterite kasvu osaliselt või täielikult.
3. Aminasiini ja streptomütsiini ning aminasiini ja ftivasiidi kompleksne tuberkulostaatiline toime tuleb esile mitte ainult ravimitundlike tuberkuloosibakterite tüvede juures, vaid ka streptomütsiini või ftivasiidi suhtes resistantseks muutunud tüvede juures.

KIRJANDUS

Haug N., Harjo V., 1963. Aminasiini bakteriostaatilisest toimest mõnede tuberkuloosibakterite tüvedele *in vitro*. ENSV TA Toimet. Biol. Seeria, nr. 2.

- Teras J., Laan I., Rõigas E., 1960. Mõningate desensibiliseerivate ainete toimest *Mycobacterium tuberculosis*'ele. Käsikiri NSVL MTA Eesti Eksperimentaalse ja Klinilise Meditsiini Instituudis. Tallinn.
- Рабухин А. Е., 1960. Лечение больного туберкулезом. М.
- Сергеев И. С., 1956. Клиническое значение стрептомициноустойчивости микобактерий туберкулеза. Пробл. туберкулеза, 6, приложение, 3—4.

NSV Liidu Meditsiiniteaduste Akadeemia
Eesti Eksperimentaalse ja Klinilise Meditsiini Instituut

Saabus toimetusse
2. IV 1963

**О КОМПЛЕКСНОМ ТУБЕРКУЛОСТАТИЧЕСКОМ ДЕЙСТВИИ АМИНАЗИНА
СО СТРЕПТОМИЦИНОМ И ФТИВАЗИДОМ НА НЕКОТОРЫЕ ШТАММЫ
ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУБЕРКУЛЕЗА *IN VITRO***

Н. Хауг,
кандидат медицинских наук

В. Харью

Резюме

Авторами исследовалось комплексное туберкулостатическое действие аминазина и стрептомицина, а также аминазина и фтивазида на некоторые штаммы возбудителя туберкулеза *in vitro*. Туберкулостатическое действие стрептомицина и фтивазида при их применении вместе с аминазином значительно усиливается. Вследствие этого полное заторможение роста туберкулезных бактерий выявляется уже в таких концентрациях стрептомицина или фтивазида, которые без аминазина не оказывают туберкулостатического действия. Такое комплексное действие аминазина со специфическими антибактериальными препаратами оказалось эффективным не только у чувствительных, но и у устойчивых к стрептомицину или фтивазиду штаммов туберкулезных бактерий.

Эстонский институт экспериментальной
и клинической медицины
Академии медицинских наук СССР

Поступила в редакцию
2. IV 1963

**ABOUT THE COMPLEX TUBERCULOSTATIC ACTION OF AMINASINE WITH
STREPTOMYCINE AND PHTHIVAZIDUM ON SOME STRAINS
OF TUBERCLE BACILLI *IN VITRO***

N. Haug, V. Harjo

Summary

The complex tuberculostatic action of aminasine and streptomycine and that of aminasine and phthivazidum on some strains of tubercle bacilli *in vitro* has been studied. The tuberculostatic action of streptomycine and phthivazidum increased markedly when they were used together with aminasine. A clearly pronounced tuberculostatic effect was noticed in concentrations in which streptomycine or phthivazidum alone had no bacteriostatic influence on the tubercle bacilli. The increased tuberculostatic action of streptomycine and phthivazidum as a result of the application of aminasine was noticed on *Mycobacterium tuberculosis typus humanus H₃₇R_V* as well as on the tubercle bacilli which were resistant to streptomycine or phthivazidum.

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

Received
April 2nd, 1963