

01001
P177

РАЗРАБОТКА
ПРЕПАРАТОВ
ПРОТИВ
ВИРУСНЫХ
И АНАЭРОБНЫХ
ИНФЕКЦИЙ

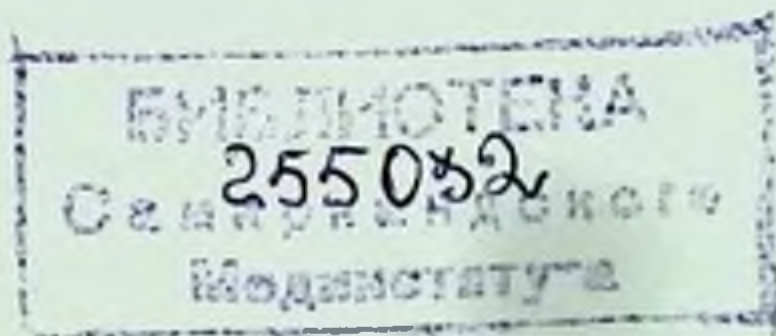
Томск — 1976

615.37

P177

РАЗРАБОТКА ПРЕПАРАТОВ ПРОТИВ ВИРУСНЫХ И АНАЭРОБНЫХ ИНФЕКЦИЙ

*Материалы межинститутской, научной конференции,
посвященной 70-летию со дня открытия Томского ордена
Трудового Красного Знамени НИИ вакцин и сывороток*



ИЗДАТЕЛЬСТВО ТОМСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

Томск — 1976

и.и.

Сборник содержит материалы научных работ, выполненных в Томском НИИ вакцины и сывороток и других институтах по вопросам разработки и изучения бактериальных препаратов и их влияния на реактивность организма.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

С. П. Карпов — ответственный редактор, Г. Е. Синельников, Ю. В. Федоров, В. Д. Подоплекин, Т. Л. Мирютова.

ИСТОРИЯ ИНСТИТУТА

ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ РАЗВИТИЯ ТОМСКОГО НИИ ВАКЦИН И СЫВОРОТОК (1906—1976 гг.)

Г. Е. СИНЕЛЬНИКОВ

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцин и сывороток

В 1976 г. исполняется 70 лет со дня открытия Томского НИИВСа и 80 лет с момента организации производства вакцин и установить, что вероятность возникновения эпизоотических

Открытие первого в Сибири и на Дальнем Востоке научно-исследовательского учреждения микробиологического профиля — бактериологического института имени Ивана и Зинаиды Чурных при Томской университете — состоялось в 1906 г. Основой его явилась также первая в Сибири станция изготовления противодифтерийной сыворотки, существовавшая с 1896 г. при Томском университете

Весьма знаменательным является то обстоятельство, что в те годы бактериологические институты, несмотря на крайнюю необходимость, имелись только при университетах Москвы и Казани.

Царское правительство не уделяло должного внимания противоэпидемическим мероприятиям, и медицинской научной общественности Томска пришлось на протяжении ряда лет преодолеть многочисленные бюрократические и финансовые трудности при основании института. Огромная заслуга в этом профессора М. Г. Курлова, профессора А. И. Судакова, доктора П. В. Бутягина и др. Следует отметить, что после длительной переписки и многочисленных докладов министр просвещения разрешил основать институт (на пожертвования В. Т. Зимина) при условии, чтобы он в будущем не вызывал никаких новых расходов из сумм государственного казначейства.

С момента основания и до настоящего времени институт прошел большой и сложный путь развития.

В первые годы своего существования институт производил противодифтерийную сыворотку, антирабическую вакцину, оспенный детрит и состоял всего из двух небольших лабораторий, в которых работало 5 сотрудников. Создание его сыграло определенную роль в развитии микробиологии в Сибири и оказании помощи населению в борьбе с инфекционными заболеваниями. Через несколько лет институт стал изготавливать также скарлатинозную и дизентерийную сыворотки.

Научно-исследовательская деятельность его была разно-сторонней и касалась вопросов общей микробиологии, бактериологии, иммунитета и таких инфекций, как бешенство, дифтерия, дизентерия, холера и др.

В дореволюционный период были выполнены три диссертационные работы. Постепенно институт становится научным центром и местом подготовки специалистов-микробиологов для всех городов от Урала до Тихого океана.

Первым директором был известный микробиолог, приват-доцент, впоследствии профессор П. В. Бутягин.

Свое подлинное развитие институт получил после установления Советской власти в Сибири и особенно после издания специального декрета, подписанного В. И. Лениным 14 января 1921 года, о необходимости первоочередного обеспечения всеми необходимыми средствами и материалами учреждений по производству бактериальных препаратов.

Именно после Великой Октябрьской революции в нем расширилась номенклатура и объем производимых бактериальных препаратов, создан эпидемиологический отдел, который проводил научные исследования и организовывал противоэпидемическую работу на огромной территории Западной Сибири; осуществлялась широкая подготовка кадров микробиологов; с помощью его специалистов создавались новые институты в областных центрах восточной части страны.

В 20-х годах институт был выделен из университета в самостоятельное учреждение и передан органам здравоохранения. С этого времени он именовался Санитарно-бактериологическим институтом, вначале областным, а затем с подчинением Западно-Сибирскому крайздравотделу.

Отвечая на запросы практических органов здравоохранения и постоянно развивая свою деятельность, институт превращается в довольно мощное противоэпидемическое и научно-производственное учреждение. Благодаря тому, что при

Томском институте систематически организовывались курсы по подготовке врачей-бактериологов, в Западной Сибири раньше, чем в других местностях, начали открываться периферические санитарно-бактериологические лаборатории.

К 1930 г. западная и центральная части Сибири располагали 20 периферийными лабораториями. В 1934 г. он был переименован в Областной институт эпидемиологии и микробиологии, а с 1939 г. был переведен в систему Наркомздрава РСФСР. К этому времени уже функционировало более 15 лабораторий и отделений, а номенклатура выпускаемых бакпрепаратов насчитывала более 25 наименований. За 20 лет (1921—1940 гг.) сотрудниками института выполнено 127 научных работ, среди них — фундаментальные исследования по бешенству (Е. И. Неболюбов, П. В. Бутягин, И. Р. Ломакин, Л. В. Портиягина, Г. Е. Неболюбова); по изучению санитарно-эпидемиологической обстановки в Кузбассе (В. В. Сукнев, В. Д. Тимаков, С. П. Карпов, Р. М. Слободской); по исследованию гематоксинов у тифопаратифозных бактерий и возбудителей бруцеллеза (С. П. Карпов, В. Д. Тимаков, Н. И. Антонов). Этими работами было положено начало большому направлению по изучению природно-очаговых инфекций.

Анализируя работу института за предвоенный период, необходимо отметить, что своей разносторонней научной, производственной и организаторской деятельностью его коллектив внес значительный вклад в дело ликвидации таких инфекционных заболеваний, как оспа, сыпной и возвратный тиф, а также в снижение заболеваемости дифтерией, брюшным тифом и др.

В годы Великой Отечественной войны вся разносторонняя деятельность института интенсифицируется. Несмотря на уход в действующую армию большой группы сотрудников, его коллектив проводил значительную методическую и организационную работу, принимал участие в борьбе с инфекционными заболеваниями. Работники производственного сектора в кратчайшие сроки резко (более чем в 4 раза) увеличили производство бактериальных препаратов, крайне необходимых для нужд фронта и тыла.

Определенную помощь оказали институту специалисты других институтов, прибывшие в Томск по эвакуации. Необходимо отметить профессоров А. А. Смородинцева, К. Т. Халяпину, А. П. Кошкина, Е. Н. Левкович, П. Н. Петрицеву, которые своей деятельностью способствовали повышению квали-

фикации местных кадров и углубленно проводимой исследовательской работы.

В период Отечественной войны сотрудниками выполнено свыше 120 научных тем и 4 диссертационные работы, в том числе одна докторская. В 1953 г. институт был переведен в ведущую группу бактериологических институтов СССР и получил наименование Томского научно-исследовательского института вакцины и сывороток. В связи с этим перед ним встал целый ряд новых сложных и ответственных задач. Необходимо было переключить работу научного коллектива ТомНИИВСа на исследования в области получения новых, более эффективных бактериальных препаратов и всемерное повышение качества и ассортимента выпускаемой продукции.

В 1958 г. было начато строительство производственного комплекса ТомНИИВСа. Построенный с учетом современных требований к производству вакцины и сывороток, он вошел в строй в 1965 г. Резко возросла и материально-техническая база его. Научная часть института получила необходимые помещения за счет корпусов, ранее занимаемых производством. В 1965—1966 гг. был окончательно определен научно-производственный профиль Томского НИИ вакцины и сывороток, как института вирусных препаратов, анатоксинов, антитоксических сывороток и гамма-глобулинов.

В соответствии с изменением структуры произошли значительные сдвиги в научной тематике. Если до реорганизации в институте основной была проблема природно-очаговых заболеваний, то после создания новых лабораторий главным становятся вопросы иммунитета и научных основ производства вакцины и сывороток. В настоящее время ведущей является проблема общей и прикладной иммунологии.

Расширение института, получение дополнительных производственных площадей, оснащенность совершенным отечественным и зарубежным оборудованием, наличие высококвалифицированных специалистов позволили расширить объем и эффективность научных исследований по созданию новых и усовершенствованию существующих бактериальных и вирусных препаратов.

В результате научных исследований только за 1966—1976 гг. сотрудниками получено около 80 достижений, направленных на создание новых лечебных, профилактических и диагностических препаратов и усовершенствование существующих. Значительные преобразования проведены по питомнику

«Рассвет», который в настоящее время превратился в крупное хозяйство, снабжающее институт лабораторными животными и кормами.

Одновременно с расширением научных исследований резко возросла производственная программа. В настоящее время предприятие института выпускает около 40 наименований различных препаратов, 10 из которых освоены за годы девятой пятилетки. Большой удельный вес в общем объеме выпуска занимают анатоксины, анитоксические сыворотки, противокоровой гамма-глобулин.

Из вирусных препаратов наибольший удельный вес занимают инактивированная культуральная сорбированная вакцина против клещевого энцефалита, оспенная вакцина из генетически однородного штамма, противоэнцефалитный и антирабический гамма-глобулины и некоторые диагностические препараты.

Институт выпускает значительный набор вирусологических питательных сред. Следует особо подчеркнуть, что ТомНИИВС является единственным институтом, выпускающим полный набор препаратов против клещевого энцефалита.

Значительных успехов добился институт в девятой пятилетке. Так, пятилетний план по выпуску и реализации медико-биологических препаратов был выполнен досрочно, 20 ноября 1975 года. Объем производства за пятилетку возрос на 80%. Рост достигнут в основном за счет повышения производительности труда. Резко повысилась рентабельность предприятия. За годы девятой пятилетки получено 4 млн. 400 тыс. рублей прибыли. Все это — результат улучшения использования основных фондов и производственных мощностей, внедрение прогрессивной технологии и новой техники, хорошей организации соцсоревнования, укрепления дисциплины труда.

В настоящее время Томский НИИВС представляет собой крупный научно-производственный комплекс, состоящий изного промышленного предприятия по производству бактериальных препаратов (22 производственных цеха и отдела) и питомника лабораторных животных «Рассвет». В институте работает свыше 1100 человек, в том числе 155 человек с высшим образованием, 1 академик АМН СССР, 4 доктора и более 40 кандидатов наук. Ведется интенсивная подготовка научных кадров. За период существования института в нем выполнено 116 диссертаций, в том числе за 1966—1976 гг. 6 докторских

и 64 кандидатские диссертации. В институте осуществляется солидная издательская деятельность. Систематически выпускаются сборники трудов ТомНИИВСа. К настоящему времени вышли в свет 26 томов трудов, в том числе за 1966—1976 гг. 10 томов. Издано 11 монографий и свыше 50 различных сборников, материалов конференций и методических указаний.

ТомНИИВС является постоянным участником ВДНХ, и его продукция экспонируется на международных выставках. Только за последние 5 лет за разработку новых препаратов он награжден дипломами II и III степени, а сотрудники — 23 серебряными и бронзовыми медалями ВДНХ. За участие в Международной выставке «Здравоохранение-74» институт отмечен Почетным дипломом президнума торгово-промышленной палаты СССР.

Постоянное содружество сотрудников института и предприятия позволяет выпускать препараты высокого качества, которые широко используются органами здравоохранения Советского Союза, а некоторые из них экспортируются в другие страны (Польша, ГДР, Вьетнам, Болгария, Югославия, Куба, Индия, Афганистан и др.).

В коллективе ТомНИИВСа за последнее десятилетие выросла большая группа высококвалифицированных научных работников — специалистов вакцинно-сывороточного дела, которые возглавили научные и производственные коллективы (Ю. В. Федоров, С. М. Прегер, О. А. Васильева, В. Д. Подopleкин, И. П. Васильева, О. В. Кулешова, Н. Г. Турлянцева, Р. А. Видилина, В. Г. Пехенько, Р. Г. Соляник, Н. Б. Альбицкая, Н. Н. Киселева, Л. Е. Подopleкина, А. П. Степанова, Л. А. Федорова, Р. К. Локтионова, З. П. Бекетова, Т. Л. Мирютова и др.).

В институте работает более 70 почетных ветеранов труда, около 200 победителей соцсоревнования 1973—1974 гг. Многие из них награждены правительственными наградами и значками «Отличнику здравоохранения» и «Отличник медицинской промышленности». Эти товарищи своей работой во многом обеспечили досрочное выполнение планов производственной и научно-исследовательской работы института. Коллектив института в девятой пятилетке неоднократно занимал классные места в социалистическом соревновании по городу и району, завоевывал переходящее Красное знамя городского комитета КПСС и городского Совета депутатов трудящихся и был от-

мечен другими почетными наградами партийных и советских органов.

Указом Президиума Верховного Совета СССР от 1 апреля 1976 года институт награжден орденом Трудового Красного Знамени.

В коллективе хранят память о первом директоре института профессоре П. В. Бутягине (с 1906—1930 гг.), профессоре Г. Ф. Вогралике — директоре института с 1932 по 1937 год. Много сил затратили для развития института профессора Т. Д. Янович и Б. Г. Трухманов. Велика созидательная роль в развитии и становлении института принадлежит старейшему сотруднику, его научному консультанту, заслуженному деятелю науки, академику АМН СССР, профессору С. П. Карпову, который трудится в институте с 1929 г. Он работал научным сотрудником в ряде производственных отделов, с 1935 г. — заместителем директора по производству, с 1939 г. — заместителем директора по науке, а с 1960 г. является научным консультантом института.

Можно было бы назвать еще целый ряд сотрудников, которые вложили свой труд, свое умение и способствовали превращению Томского НИИ вакцин и сывороток Минздрава СССР в крупнейший научно-исследовательский и научно-производственный институт на территории Сибири и Дальнего Востока. Благодаря неустанной заботе КПСС и Советского правительства об охране здоровья населения, Томский НИИВС постоянно развивается и имеет хорошие перспективы на будущее как по линии научно-исследовательской работы, так и по производству бактериальных препаратов, а выполнение нового десятого пятилетнего плана приведет к еще большему развитию всех сторон его многоотраслевой деятельности.

СТАНОВЛЕНИЕ И РАЗВИТИЕ ВИРУСОЛОГИИ В ТОМСКОМ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОМ ИНСТИТУТЕ ВАКЦИН И СЫВОРОТОК

Ю. В. ФЕДОРОВ

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцин и сывороток

В 1976 г. исполняется 70 лет со дня открытия Томского на-

учно-исследовательского института вакцины и сывороток Министерства здравоохранения СССР. За эти годы институт прошел большой и сложный путь своего развития и превратился в крупное научно-производственное учреждение страны. Одним из ведущих направлений в научной деятельности коллектива института являются исследования, направленные на всестороннее изучение вирусов животных и человека, разработку новых и совершенствование существующих профилактических, диагностических и лечебных вирусных препаратов. В этом отношении проделана огромная работа, нашедшая свое отражение в более чем 900 публикациях, имеющих прямое или косвенное отношение к данному вопросу. Как следствие этой работы, сотрудниками института было выполнено и защищено 5 докторских и 38 кандидатских диссертаций. Многолетние исследования по клещевому энцефалиту обобщены в 2 монографиях. В разные периоды своей деятельности институт занимался изучением вирусов бешенства, оспы, гриппа, кишечных, арбо- и аренавирусов, а также и бактериофагов.

Изучена эффективность специфической профилактики бешенства, определены особенности морфологического состава крови, испытаны различные методы изготовления вакцины, установлены причины возникновения поствакцинальных осложнений, уточнены биологические свойства фиксированного вируса и возможность его культивирования в симбиозе с непатогенными микробами. Проведены наблюдения по изучению действия фитонцидов лука на вирус бешенства. Разрабатывались методы изготовления антирабической сыворотки и специфического гамма-глобулина.

Значительный материал накоплен по изучению вируса осповакцины. Проводились исследования, направленные на повышение качества штамма-лимфы путем пассажей через организм поросят и телят, изучено влияние замораживания и оттаивания на вирулентность оспенного детрита, был внедрен интенсивный метод иммунизации телят с использованием всей поверхности кожи для прививок. Предложен метод очистки оспенного соскоба от сопутствующей микрофлоры с помощью стафилококкового бактериофага и грамицидина. Дана генетическая характеристика однородности популяции производственного штамма осповакцины, степени его патогенности, термостабильности, иммуногенности, антигенности, реактогенности штаммов вируса, используемых в различных странах. Показано наличие сенсибилизирующих свойств препарата

в зависимости от свойств штамма, из которого приготовлена вакцина. Обширные исследования выполнены по усовершенствованию технологического процесса изготовления диагностикума для реакций преципитации в агаре и гемагглютинации. Проводились наблюдения по отработке рационального метода изготовления диагностической сыворотки к вирусу осповакцины.

За период с 1934 по 1961 год проведены наблюдения по изучению технологии изготовления различных фагов, усовершенствована питательная среда, всесторонне изучены свойства и эффективность выпускаемых препаратов, разработан метод фагопрофилактики брюшного тифа и метод постоянного фагирования в детских коллективах с целью профилактики бактериальной дизентерии. Предложен метод фагосеротерапии брюшного тифа. Выполнены наблюдения по изменчивости брюшнотифозного бактериофага. Для профилактики летних острых желудочно-кишечных заболеваний предложен комплексный препарат, названный интестифагом.

Определенный вклад внесен и в изучение вируса гриппа и аденовирусов. Показано влияние фитонцидов лука и чеснока на первый возбудитель, выявлены биологические свойства местных штаммов и их структура, проведена серологическая и вирусологическая диагностика заболеваний гриппом и аденовирусами в Томске и показано, что 40,1 % случаев ОРЗ вызывается 3 и 7 типами последних.

Проведены глубокие и всесторонние наблюдения по физико-химическим и биологическим свойствам вирусов ЕСНО, предложен метод концентрации и очистки, выявлены внутри-типовые и внутриштабмовые вариации вирусов, изолированных в разных географических зонах, подробно изучены взаимодействия этих вирусов с клетками тканевых культур, их изменчивость, иммуногенные и антигенные особенности.

Весьма значительный вклад внесен в изучение арбо- и аренавирусов, заниматься которыми институт начал с 1946 г. Установлены резервуары вируса клещевого энцефалита в природных очагах заболевания, изучены биологические свойства штаммов вируса, изолированных из различных объектов. Изучалась иммунобиологическая реактивность вакцинированных лиц, разрабатывались вопросы производства профилактических, лечебных и диагностических препаратов. Отработаны оптимальные условия изготовления мозговой, эмбриональной и культуральной вакцины, получения гипериммунной сыворотки

и методы ее титрования, способы изготовления диагностических препаратов и методы выявления этого заболевания.

Предложены различные схемы иммунизации человека инактивированной вакциной клещевого энцефалита, изучалась ее эпидемиологическая эффективность. Определены условия применения специфического гамма-глобулина и его эффективность. Разрабатывались методы вирусологической и серологической диагностики болезни. Предложен был и соответствующий препарат, названный аллергеном вируса клещевого энцефалита.

Важные исследования выполнены в отношении получения и изучения аттенуированных вариантов вируса клещевого энцефалита и разработки метода контроля живой вакцины.

С 1965 г. приступили к системным исследованиям по изучению вирусов группы лошадиных энцефаломиелитов. Выявлены генетические признаки вирусов венесуэльского и восточного энцефаломиелитов и изменения их в процессе пассажей при различных температурах, и длительным пассированием на культуре ткани показана возможность получения апатогенных вариантов вирусов и изучены их биологические свойства.

Значительные наблюдения выполнены по выделению аттенуированных вариантов вирусов восточного и венесуэльского энцефаломиелитов путем воздействия на патогенные штаммы различных химических мутагенов и дана генетическая и биологическая характеристика их свойств. Разработаны методы получения специфических сывороток против вирусов западного и венесуэльского энцефаломиелитов.

Определенный интерес представляют исследования по изменению показателей окислительно-восстановительных биоэнергетических процессов печени у животных при сочетании гипериммунизации их вирусами клещевого энцефалита и восточного энцефаломиелита лошадей, выяснены особенности углеводного, липидного белкового и гормонального обменов веществ в организме иммунизируемых животных.

Заслуживают внимания исследования по изучению арена-вирусов. Установлено наличие вызываемых ими инфекций на территории Западной Сибири, выделены штаммы и изучены их биологические свойства, получены диагностикумы и сыворотка. Проводились исследования по изучению биологических свойств вирусов Такарибе и Амапари и получению диагностических препаратов.

Подводя итог проведенным в институте исследованиям,

следует подчеркнуть, что сотрудники его выполнили значительные работы в области изучения различных вирусов и внесли определенный вклад в теоретическую и прикладную вирусологию.

РАЗРАБОТКА ПРЕПАРАТОВ ПРОТИВ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА В ТОМСКОМ ИНСТИТУТЕ ВАКЦИН И СЫВОРОТОК

С. П. КАРПОВ

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцин и сывороток

Начало разработки профилактических, лечебных и диагностических препаратов может быть отнесено к 1945 г., когда под нашим руководством развернулись исследования по изучению клещевого энцефалита в Томской области, а в дальнейшем и на ряде других территорий Западной Сибири. Как следствие этого, в 1955 г. был организован отдел (в дальнейшем цех) по производству вакцины (вначале мозговая и эмбриональная, а в дальнейшем культуральная), сывороточных препаратов (нативная гетерогенная сыворотка, специфический гамма-глобулин, сыворотка, очищенная методом Дна-ферм-3) и диагностикумов.

В этой области знаний сотрудники института опубликовали свыше 170 научных статей и защитили 3 докторские (Федоров, 1966; Васильева, 1970; Ерофеев, 1975) и 10 кандидатских (Тюшнякова, 1956; Стеткевич, 1961; Видилина, 1966; Прилуцкая, 1966; Синельников, 1967; Локтионова, 1967; Мирютова, 1967; Турлянцева, 1968; Трухманова, 1972; Устинов, 1975) диссертаций.

Значительные исследования выполнены по разработке методов изготовления и контролей вакцины клещевого энцефалита. Подробно изучены оптимальные условия обезвреживания вируса с целью использования его в вакцинном производстве, разработаны оптимальные условия лиофилизации мозговой вакцины в аппарате ЛЖ-200 и камерах типа ИЭМ-3 с хладоагентом АК-ФДС-1а. Проводились исследования по усовершенствованию препарата путем максимального осво-

бождения его от балластных веществ с помощью центрифугирования и фильтрации через асбестовые фильтры типа СФ и Ф. Предпринимались попытки усовершенствования вакцины из тела куриного эмбриона путем использования хорионаллантоисной оболочки и жидкостей инфицированного эмбриона. Много внимания уделено разработке культуральной тканевой вакцины. Показано, что наибольшее накопление вируса в культуре ткани имеет место при репродуцировании его в клетках, находящихся в питательной среде во взвешенном состоянии, изучен состав различных питательных сред и показана пригодность многих из них для репродуцирования вируса. Отмечена прямая зависимость иммуногенных и антигенных свойств культуральной вакцины от величины исходного титра вируса. Предпринимались попытки усиления иммуногенных свойств вакцины путем использования внутриклеточных резервов вирусного антигена и изучена антигенная и иммуногенная активность внутриклеточного вируса. Проводилась отработка оптимальных условий лиофилизации культуральной вакцины путем изучения режимов высушивания, подбора различных наполнителей. Значительное внимание уделялось исследованиям по получению селекционированного, термоустойчивого крупнобляшечного варианта штамма вируса клещевого энцефалита, обладающего высокой иммунологической активностью. Выбрана оптимальная среда высушивания штаммов, обеспечивающая высокую жизнедеятельность вируса при хранении даже при высоких температурах.

Проводились интенсивные исследования по получению и изучению аттенуированных вариантов вируса клещевого энцефалита, пригодных для изготовления живой вакцины. Первые попытки в этом отношении были предприняты еще в 1961 г. Тюшняковой, которая сообщила о возможности селекционирования ослабленных вариантов вируса путем пассажа через организм естественно невосприимчивых щенят дворовых собак. Позже Ерофеев, используя метод ускоренных пассажей патогенного штамма вируса через печень и селезенку подкожно зараженных крысят, получил штамм вируса со сниженной периферической нейротропностью для белых мышей. Отработаны условия репродуцирования аттенуированного вируса в культуре ткани. Изучена генетическая характеристика штамма, особенности размножения вируса в организме животных, вирусемия, специфическая безопасность по отношению к лабораторным животным и обезьянам, анти-

генные и иммуногенные свойства, степень нейроморфологических изменений в мозге белых мышей, поросят, обезьян. Первые 3 серии живой вакцины испытаны на добровольцах и показали, что они ареактогенны, специфически безопасны и обладают выраженными антигенными свойствами.

Проводились значительные исследования по разработке методов получения специфических сывороточных препаратов и их совершенствованию. Отработан метод изготовления гипериммунной сыворотки путем иммунизации лошадей и крупного рогатого скота вирусом клещевого энцефалита, осуществлены наблюдения по использованию местных штаммов с целью получения специфической сыворотки, изучено влияние на процесс гипериммунизации антигенов, вводимых в смеси с различными раздражителями и адьювантами. Предпринимались попытки получения сыворотки путем гипериммунизации продуцентов культуральным вирусом. Большое внимание уделено методам повышения и восстановления реактивности организма животных. Многолетние исследования в этом направлении легли в основу метода производства противоэнцефалитной сыворотки, включенного в технологический регламент и использованного в настоящее время с целью изготовления специфического гамма-глобулина.

Большая серия исследований выполнена и по разработке и усовершенствованию методов концентрации и очистки нативной сыворотки. Разработана и усовершенствована очищенная сыворотка Диаферм-3 ИЭМ АМН СССР, основанная на пептическом переваре белков, выполнены исследования по изучению новых методов выделения гамма-глобулина, способных увеличить выход препарата без снижения его специфических свойств, разрабатывались новые методы выявления специфических антител в сыворотке гипериммунизированных животных и очищенных специфических препаратах.

Успешные исследования проводились по разработке диагностических препаратов. Предложен способ изготовления диагностикума клещевого энцефалита для РСК путем очистки вируса от мозговой ткани метиловым и этиловым спиртами и протамин-сульфатом, отработан оптимальный режим лиофилизации. Эти исследования нашли отражение в регламенте на производство препарата и утверждены в СВК.

Предпринимались попытки использования в качестве антигена вируса, репродуцированного в культуре ткани.

Проводились наблюдения по изготовлению диагностикума для РПГА. С этой целью изучены различные способы его приготовления, освобождения от ингибиторов, методы инактивации. Определенное внимание уделено разработке способа изготовления аллергена из вируса, выращенного в аллантоисной жидкости эмбриона курицы, инаktivированного 0,01% -ным формалином в сочетании с ультразвуком.

Приведенные материалы показывают, что сотрудники Томского НИИВСа провели серьезные исследования по разработке препаратов против клещевого энцефалита и внесли определенный вклад в практическое здравоохранение.

РАЗВИТИЕ СЫВОРОТОЧНОГО ПРОИЗВОДСТВА В ТОМСКОМ ИНСТИТУТЕ ВАКЦИН И СЫВОРОТОК

С. М. ПРЕГЕР

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцин и сывороток

История развития сывороточного дела в Томском институте вакцин и сывороток насчитывает 80-летнюю давность, и начинается она с 1896 г., когда при Томском университете по инициативе профессора гигиенической лаборатории Судакова была открыта станция по приготовлению противодифтерийной сыворотки. Возглавил ее Бутягин.

В 1897 г. станция выпустила для нужд здравоохранения Сибири около 200 000 АЕ противодифтерийной сыворотки. Возможности станции были ограничены, поэтому выпуск препарата хотя и увеличивался, но очень медленно.

В 1906 г. был открыт собственно бактериологический институт, куда вошла станция по производству противодифтерийной сыворотки. С этого момента ассортимент сывороточных препаратов увеличивается. Так, в 1907 г. институт освоил выпуск гипериммунной противоскарлатинозной сыворотки и приступил к освоению противодизентерийной.

С установлением Советской власти начинается бурное развитие института и в нем сывороточного производства. С 1920 г. институт получает от Наркомздрава задание по обеспечению

всей Сибири от Урала до Дальнего Востока лечебно-профилактическими сыворотками. В связи с этим обстоятельством увеличивается план и расширяется ассортимент сывороточных препаратов. Так, за годы первой пятилетки (1928—1933) план сывороточного отделения достиг 134 % по сравнению с 1928 г. В этот период отделение выпускало для нужд здравоохранения 5 видов гипериммунных сывороток: противодифтерийную, противодизентерийную, противоскарлатинозную, противострептококковую, противоменингококковую.

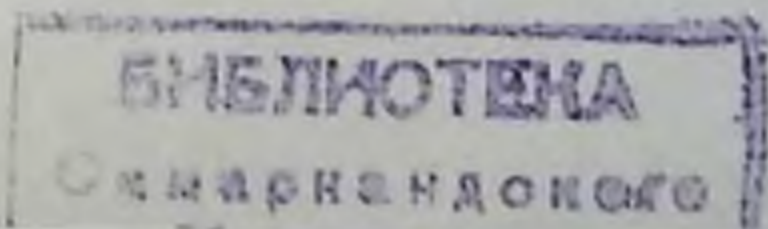
В годы второй пятилетки был освоен выпуск противостолбнячной сыворотки и поливалентной противопневмококковой сыворотки. Улучшается и качество выпускаемых препаратов.

В первый год третьей пятилетки началось освоение производства противогангренозной сыворотки. В 1941 г. были выпущены в комплекте первые серии этого препарата. Приготовление сывороток против раневых инфекций резко возросло в годы Великой Отечественной войны. В этот период выпускались в больших количествах противостолбнячная сыворотка — 2 792 800 доз, противогангренозная — 289 000 доз, противоскарлатинозная — 1 087 200 000 АЕ и противодифтерийная — 3 676 200 000 АЕ.

Развитие и рост сывороточного производства демонстративно виден при сопоставлении некоторых цифровых данных в динамике, например, поголовья производителей. Если в 1896 г. бактериологическая станция начинала свою деятельность с 2 производителями, а вновь организованный в 1906 г. бактериологический институт имел 5 лошадей, то в 1940 г. сывороточное производство насчитывало 94 лошади, к 50-летию юбилею института — 250, к 60-летию — 686 и к 70-летию — 791 производитель.

Следует также отметить, что за какие-то 15 последних лет в денежном выражении выпуск сывороток увеличился в 5,2 раза.

В 40-х годах производство Томского НИИВСа перешло на изготовление сывороток в очищенном и концентрированном виде. Вначале это осуществлялось методом водного, затем комбинированного диализа, а в 1955 г. был применен метод Диаферм-3 ИЭМ АМН СССР, который занял прочное место в сывороточном производстве, и с 1955 г. Томский НИИВС выпускает сыворотки только в очищенном и концентрированном методом пептического переваривания виде.



Начиная с 1967 г. сывороточный цех института приступил к освоению противоботуллинических сывороток. Осваивалось производство моновалентных противоботуллинических сывороток типов А, В, С, Е. В 1968 г. выпустили в комплекте первую тысячу доз препарата. В последующие годы выпуск данного препарата бурно возрос.

Развитие сывороточного производства в Томском институте вакцины и сывороток шло параллельно с научными изысканиями в этой области. Интересно отметить, что за 80 лет научно-производственной деятельности института по сывороточному делу опубликованы 3 монографии, из них 2 представляют изданные материалы докторских диссертаций Никанорова (1897) и Бутягина (1901) и одна «Гипериммунные сыворотки» (Карпов, Прегер, Синельников, Федоров, 1976) посвящена обобщению опыта производства лечебно-профилактических и диагностических гетерогенных сывороточных препаратов. Кроме того, за этот период опубликовано свыше 300 статей в местной и центральной печати, касающихся антитоксических и меньше антибактериальных сывороток. За рассматриваемый период по тематике сывороточного производства защищены 3 докторские и 19 кандидатских диссертаций.

В институте велись исследования, касающиеся противодифтерийной, противостафилококковой, противоменингококковой, противостолбнячной, противогангренозной, противоботуллинической сывороток.

Выяснилось влияние возраста, пола и породы используемых лошадей, метода их грундирования на иммунологическую реактивность. Большое внимание уделялось качеству антигена и схемам иммунизации.

Проводилось изучение значения реинфузии при эксплуатации продуцентов.

Разнообразные наблюдения посвящены усовершенствованию очистки и концентрации сывороток и изучению свойств очищенного препарата при хранении. Часть этих исследований касается выяснения факторов, влияющих на стабильность титра, возможности стабилизации его различными сахарами. Проведены исследования по определению выхода и степени очистки антитоксина в зависимости от технологической схемы, а также влияние метода обработки сыворотки на качество препарата и напряженность создаваемого им пассивного иммунитета.

Разносторонние исследования выполнены по разработке всей технологии получения противоботуллинической сыворотки из крови крупного рогатого скота. Результатом последних исследований явился препарат, на который утверждены лабораторный регламент и технические условия.

Таким образом, за 80-летнюю историю развития сывороточного дела в Томском НИИВСе выполнена большая работа по освоению и усовершенствованию сывороточных препаратов и разработке новых, что внесло определенный вклад в теоретическую и практическую иммунологию.

К ВОПРОСУ РАЗВИТИЯ ГАММА-ГЛОБУЛИНОВОГО ПРОИЗВОДСТВА В ТОМСКОМ ИНСТИТУТЕ ВАКЦИН И СЫВОРОТОК

Н. Г. ТУРЛЯНЦЕВА

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцин и сывороток

Гамма-глобулиновая лаборатория была создана в институте в 1956 г. В задачу ее входила организация сбора плацентарной крови с охватом всех роддомов Томска и освоение метода получения противокоревых гамма-глобулинов камерным способом. В конце 1957 г. было выпущено 6,1 тыс. доз противокоревых гамма-глобулинов и 3,5 л гамма-глобулина против клещевого энцефалита.

В дальнейшем производство препаратов значительно возрастает. Так, по противокоревому гамма-глобулину в 1959 г. выпуск составлял 79,5 тыс. доз и гамма-глобулина против клещевого энцефалита — 437 л.

В 1962 г. проводится реконструкция цеха и введен внекамерный способ производства с автоматизацией и механизацией технологического процесса на некоторых этапах фракционирования гамма-глобулина против клещевого энцефалита (Черкашин, 1963). Последнее позволило значительно увеличить производственные мощности цеха, разделить производство гомологичных и гетерогенных препаратов и увеличить зна-

чительно их выпуск (гамма-глобулина против энцефалитного до 1117 л).

В 1964 г. цехом освоено производство антирабического гамма-глобулина и 150 л его было выпущено.

В 1966 г. план производства достигает 589 л в год. Значительная работа проводилась по расширению сырьевой базы для производства противокорревого гамма-глобулина: создаются новые пункты сбора крови в Барнауле, Бийске, Новосибирской области (1961—1965 гг.), соответственно растет выпуск противокорревого гамма-глобулина — 369 тыс. доз в год.

В 1965 г. осуществляется перебазирование производства на новые площади, и фракционирование плацентарных и абортных сывороток проводится внекамерным способом.

В 1972 г. ТомНИИВСу прикрепляют новые пункты сбора, расположенные на территории Казахской ССР, сбор плацентарной и абортной сывороток возрос с 14 до 28 тыс. л в год, соответственно увеличивается выпуск противокорревого гамма-глобулина до 850 тыс. доз. (1973—1975 гг.).

С 1967 г. в цехе освоено и выпущено 54 л гамма-глобулина против лептоспироза, а с конца 1969 г. осваивается новый препарат для внутривенного введения — протенин, который готовится из отходов противокорревого производства. С 1970 г. выпуск протенина уже составляет 2247 л, а в 1975 г. — 3500 л.

В настоящее время осваивается новый препарат крови — гиста-глобулин.

Одновременно с производственным освоением новых препаратов крови и гетерогенных гамма-глобулинов происходит усовершенствование процессов. Так, проводились исследования по усовершенствованию производства гамма-глобулина против клещевого энцефалита, направленные на повышение выхода препарата (Плахова с соавт., 1961, 1965).

В 1963—1965 гг. проводятся исследования по изучению методов фракционирования антирабической (Стрельникова с соавт., 1969) и противооспенной (Федотова с соавт., 1969) сывороток.

В этот период времени проводятся исследования по усовершенствованию производства протенина (Турлянцева с соавт., 1974) и очистки его от пирогена.

Проводятся наблюдения (Турлянцева, 1968) по изысканию новых методов выделения гамма-глобулиновой фракции из гетерогенных антивирусных сывороток. Установлено, что худшие результаты оказались при применении риванолового ме-

года и метода спиртоферм. Наилучшим способом извлечения гамма-глобулинов из гипериммунной сыворотки против клещевого энцефалита явился риванол-спиртовый метод, который внедряется в производство.

Таким образом, из представленных материалов видно, что в цехе по производству гамма-глобулинов за период 1956—1975 гг. осуществлена определенная научно-производственная работа по внедрению новых препаратов и их совершенствованию. Она продолжается в настоящее время и направлена на дальнейшее улучшение и расширение номенклатуры выпускаемых иммуноглобулинов и препаратов крови.

ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ВАКЦИНОПРОФИЛАКТИКИ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

А. А. СМОРОДИНЦЕВ

Отдел вирусологии НИИ экспериментальной медицины АМН СССР,
Ленинград

Разработка и применение методов вакцинопрофилактики вирусных инфекций ограничены по эпидемиологическим и иммунологическим показателям сравнительно небольшой группой наиболее массовых или особо тяжелых заболеваний, способных стимулировать при естественном развитии формирование достаточно напряженного и продолжительного иммунитета.

Теоретической базой активной иммунизации является прочно доказанное положение об особо важной защитной роли специфических факторов в защите от вирусных инфекций с самостерилизующим типом иммунитета и возможность их искусственного воспроизведения с помощью живых или убитых вакцин.

В соответствии с современной общей концепцией иммунитета воздействие антител, а также распознавание и разрушение тимоцитами зараженных вирусами клеток сочетаются и усиливаются активным участием неспецифических факторов резистентности, таких, как макрофагальная система фагоцитоза, продукция интерферона, вируснейтрализующие ингибиторы, пирогенные реакции, кофактор.

Фундаментальные отличия в продолжительности и эффективности защитного действия живых и убитых вакцин следует искать в особенностях их взаимодействия с главным исполнительным органом иммунитета — лимфоидными клетками. Тот же механизм связан с особенностями противовирусного иммунитета при остропротекающих циклических самостерилизующихся инфекциях и при длительно персистирующих вирусных инфекциях хронического типа с их господствующим иммунопатологическим механизмом специфической защиты.

Резкое отставание эффективности убитых препаратов от живых ослабленных вакцин компенсируется более ограниченными возрастными и клиническими противопоказаниями к их применению, а также возможностью доработки солидного многолетнего иммунитета под воздействием последующих естественных заражений, смягченных предшествующей иммунизацией.

Опыт успешной вакцинопрофилактики таких особо важных вирусных инфекций, как оспа, желтая лихорадка, полиомиелит, корь убедительно обосновал огромное преимущество живых вакцин, наиболее полно воспроизводящих такие основные черты естественно приобретенного иммунитета, как гармоническое сочетание общей гуморальной и местной секреторной защиты, многолетнюю продолжительность и высокую напряженность.

Шансы на получение высокоэффективных живых вакцин находятся в прямой зависимости от иммуногенных потенциалов возбудителей, выявляющихся в естественных условиях развития соответствующих инфекций. Формирование пожизненного иммунитета после перенесенного клещевого энцефалита, кори, свинки, краснухи заранее предопределяет возможность получения против этих инфекций наиболее эффективных живых вакцин. Такими же качествами наделены естественно attenuированные штаммы вируса осповакцины или малайского вируса, а также штамм Еланцев — вариант клещевого энцефалита.

Гораздо труднее подготовить высокоиммуногенные живые вакцины против вирусных инфекций, вызывающих развитие сравнительно кратковременного и менее напряженного естественного иммунитета, таких, как грипп, парагрипп, респираторно-синцитиальная или риновирусная инфекция. Иммуногенная активность этих вирусов тесно связана с их вирулентностью и быстро деградирует по мере ослабления болезнетворных свойств возбудителя для человека.

В докладе дается анализ итогов и перспектив активной иммунизации против клещевого и японского энцефалитов, кори, эпидемического паротита, краснухи и ведущей группы респираторных вирусных инфекций (грипп, адено, парагрипп) а также микоплазмы пневмонии.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИММУНОПРОФИЛАКТИКИ ОСПЫ В СССР В СВЯЗИ С РЕАЛИЗАЦИЕЙ ПРОГРАММЫ ЛИКВИДАЦИИ ОСПЫ В МИРЕ

Г. Н. ХЛЯБИЧ

Министерство здравоохранения СССР

Направленность и объемы общегосударственных и, прежде всего, противоэпидемических мероприятий, реализуемых в борьбе с инфекционными болезнями, издавна определялись их социально-экономической значимостью: степенью распространения, уровнем и структурой заболеваемости населения, тяжестью клинического течения, смертностью и как их следствие — экономическим ущербом, наносимым государству, особенно в результате эпидемий.

С учетом перечисленных параметров значимости оспа на протяжении существования человечества являлась одной из наиболее социально значимых инфекционных болезней.

Оспе, как и всем антропонозам с воздушно-капельным механизмом передачи возбудителя, свойственно эпидемическое распространение вследствие практически стопроцентной восприимчивости человека. Однако в отличие от других инфекций заболевание оспой, как известно, сопровождается чрезвычайно высокой смертностью; именно поэтому оспа отнесена к группе конвенционных (карантинных) заболеваний.

Не удивительно, что к борьбе с оспой было обращено особое внимание не только медицинской общественности; во многих странах профилактика оспы стала в полном смысле функцией государства, где соответствующие мероприятия регламентируются общенациональными декретами.

Не случайным, очевидно, является и тот факт, что оспенная вакцина — первый в мире профилактический препарат, разработанный еще в 1796 г. Э. Дженнером.

Следует отметить, что уже в первые годы после становления нашего государства специальным декретом было введено обязательное оспопрививание, позволившее к 1936 г. практически ликвидировать заболеваемость оспой, с которой в дореволюционной России были связаны поистине опустошающие эпидемии.

В 1958 г. на XI ассамблее Всемирной Организации Здравоохранения делегацией СССР была предложена принятая затем ВОЗ программа ликвидации оспы на земном шаре. Программа предусматривала активное проведение всего комплекса организационных мероприятий и прежде всего 100 % охват непривитого населения вакцинацией.

В последующие годы ряд стран активно проводил реализацию этой программы, однако к 1967 г. успех оказался ниже ожидавшегося. Анализ материалов 1958—1965 гг., проведенный в связи с этим Всемирной Организацией Здравоохранения, показал, что наряду с недостаточностью общеорганизационных мер, мероприятий по эпиднадзору и сбору полноценной информации, слабой материально-технической базой реализации программы, отмечается малый объем вакцинопрофилактики и использование вакцин с невысокой инфекционностью (особенно при ревакцинации).

Глобальная программа ликвидации оспы, принятая в 1966 г. XIX ассамблеей ВОЗ, была составлена уже с учетом указанных выше недочетов. При этом особо подчеркивалась роль повышения уровня коллективного иммунитета у населения прежде всего в эндемичных по оспе странах.

В настоящее время программа ликвидации заболеваемости оспой успешно заканчивается. Так, если в 1967 г. случаи оспы регистрировались в 43 странах, в 1968 — в 38; в 1969 — в 30; в 1970 — в 23; в 1971 — в 17; в 1974 г. — только 9, причем в 3 (Индия, Эфиопия, Бангладеш) показатели заболеваемости были не только достаточно высокими, но и устойчивыми.

Таким образом, вся история борьбы с оспой свидетельствует о том, что при наличии эпидемических осложнений по оспе в ряде стран практически единственным средством резкого снижения вплоть до ликвидации заболеваемости там, где она регистрируется, а с другой стороны, проведение эффективных программ сдерживания заболеваемости является тотальная иммунизация населения, проводимая в рамках календаря профилактических прививок. Последнее, естественно, не исключает организации экспресс-иммунизации соответствующих контингентов населения в случае возникновения эпидемических очагов.

Однако в настоящее время ряд стран (США, Франция и др.) приняли программу так называемой селективной

иммунизации против оспы — вакцинации отдельных, наиболее уязвимых, в связи с риском заражения, групп населения.

Следовательно, можно думать, что, в частности, указанные страны считают вполне надежным осуществление программы селективной иммунизации с учетом эпидемической ситуации по оспе, сложившейся к настоящему времени в мире. Так, частота заносов инфекции в свободные от нее страны резко сократилась, а материально-технические возможности оперативной организации всего комплекса противоэпидемических мероприятий по локализации очагов оспы в случае их возникновения (наличие в стране подготовленных специалистов, уровня и объема лабораторной диагностики, вакцины и оперативных средств иммунизации и др.) резко возросли.

Между тем думается, что при наличии факта заболеваемости оспой в мире и все возрастающих контактов между странами (в том числе и эндемичными по оспе) динамическое накопление неиммунных контингентов, а отсюда и повсеместное введение системы селективной иммунизации — не оправдано. Иными словами, представляется, что переход на систему селективной иммунизации в свободных от оспы странах без накопления соответствующего опыта — дело преждевременное. Подтверждением правомерности такого заключения следует считать тот факт, что даже при условии тотальной иммунизации в высокоразвитых странах нет гарантии, полностью исключающей эпидемическое распространение оспы в случае ее завоза. Указанные факты общеизвестны.

В нашей стране, где целесообразность проведения эффективных мер по охране здоровья человека не обсуждается с позиций материальных затрат, прививки против оспы остаются обязательными.

Однако в будущем вполне возможно, что в определенный момент частота случаев, в первую очередь, тяжелых поствакцинальных осложнений может превысить вероятностную величину количества случаев заболеваний от завоза инфекции. Поэтому совершенствование тактики противооспепных мероприятий заслуживает научного анализа и разработки.

В прямой связи с изложенным в настоящее время в стране успешно проводятся научные исследования по выбору наименее реактогенного штамма вакцины, отработке щадящих и оперативных методов иммунизации, позволяющих практически полностью исключить тяжелые поствакцинальные ос-

ложения. Следует считать поэтому высоко актуальными и проводимые испытания новой тканевой вакцины, которая рассчитана на применение с помощью безыгольных инъекторов прежде всего при ревакцинации.

При оценке перспектив модификации системы профилактики оспы следует, по нашему мнению, обсудить и ряд, казалось, чисто теоретических положений. Так, с ликвидацией заболеваемости оспой в настоящее время зачастую отождествляют понятие ликвидации возбудителя оспы как вида. Доктор Х. Малер — генеральный директор ВОЗ в своем послании Всемирному дню здоровья 1975 г. пишет: «Момент ликвидации оспы приближается. Мы достигли той стадии, когда можно сказать, что оспе возврата нет. Это начало ее конца. Она больше не сможет опустошать страны».

Однако такое утверждение требует серьезных обоснований и чтобы из гипотезы превратиться в факт, думается, необходимо, чтобы после повсеместного прекращения заболеваемости и последующего накопления генерации непривитых контингентов на протяжении ряда лет случаи заболеваний оспой не регистрировались.

В тесной связи с указанным стоит задача по получению обоснованных материалов в том, что вирус оспы обезьян не сможет быть причиной эпидемических осложнений по оспе среди людей.

Только при решении этих практически важных аспектов проблемы возможно осуществить тотальную ликвидацию оспы как вида.

ПУТИ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ СРЕДСТВ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ В СВЯЗИ С ПРОБЛЕМОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ СТАНДАРТИЗАЦИИ

С. Г. ДЗАГУРОВ

Государственный научно-исследовательский институт стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л. А. Тарасевича

Проблема борьбы с инфекционными заболеваниями, несмотря на определенные успехи в этой области, остается од-

ной из самых актуальных в практике здравоохранения. Значительный прогресс, достигнутый за последние годы в этом направлении, несомненно, связан с неуклонным совершенствованием средств и методов их специфической профилактики. В связи с этим повышение качества медицинских биологических препаратов и в первую очередь вирусных и бактериальных вакцин постоянно должно находиться в центре внимания научных и производственных учреждений нашей страны.

В соответствии с постановлением ЦК КПСС и Совета Министров СССР от 10.XI.1970 г. и приказом министра здравоохранения СССР от 10.III.1971 г., № 150 «О повышении роли стандартов и улучшении качества выпускаемой продукции», приказом министра здравоохранения СССР от 23.II.1973 г. № 145 создана научная проблема союзного значения «Стандартизация медицинских биологических препаратов для профилактики и диагностики инфекционных болезней» с возложением функций головного учреждения на институт им. Л. А. Тарасевича МЗ СССР.

Основными задачами этой проблемы являются координация научных исследований, направленных на последовательное совершенствование препаратов для специфической профилактики и диагностики инфекционных болезней, и разработка стандартов медицинских биологических препаратов.

В свете проблемы биологической стандартизации конкретными задачами совершенствования качества вирусных препаратов представляются следующие: использование диплоидных клеток на производстве вирусных вакцин, разработка и совершенствование методов контрольных испытаний на отсутствие посторонних, в том числе онкогенных, вирусов в субстратах изготовления вирусных вакцин, сравнительное изучение аттенуированных штаммов вирусов, используемых или рекомендованных для изготовления живых вирусных вакцин. Крайне актуальной является задача, связанная с усовершенствованием и стандартизацией технологии изготовления живых и убитых вирусных вакцин, предусматривающая применение наиболее приемлемых производственных субстратов (опять-таки диплоидных клеток человека и животных, лабораторных животных чистых линий, содержащихся в специальных изолированных хозяйствах, безлейкозных субстратов птичьего происхождения). Наконец, насущной задачей практики здравоохранения является изучение реактогенности и иммуногенности

вакцины (вирусных и бактериальных) в эпидемиологических опытах, что связано с необходимостью создания в нашей стране специального центра по изучению патогенеза поствакцинальных реакций и осложнений.

Совершенствование качества бактериальных препаратов в первую очередь связано с разработкой технологии производства высокочувствительных, сухих, стандартных, синтетических питательных сред для изготовления анатоксинов и вакцин; с разработкой, совершенствованием и стандартизацией живых бактериальных вакцин и убитых бактериальных вакцин — химических и ассоциированных. Необходима дальнейшая разработка требований к штаммам, используемым для изготовления живых бактериальных вакцин, методам стабилизации и условиям хранения живых вакцин, разработка маркеров, определяющих иммунологическую полноценность вакцинных штаммов. Нельзя не назвать актуальной задачу дальнейшего совершенствования методов контроля стерильности препаратов и выработку лабораторных критериев количественной оценки безвредности и специфической активности препаратов.

Неотложными задачами, связанными со стандартизацией анатоксинов, являются отбор и селекция высокотоксигенных штаммов, совершенствование питательных сред, изучение фракционного состава токсинов и анатоксинов для получения наиболее очищенных и активных препаратов; разработка научно обоснованных оптимальных условий сорбирования отдельных видов анатоксинов.

Не менее важны задачи по совершенствованию существующих и разработке новых специфических иммуноглобулинов и сывороточных полиглобулинов, а также препаратов для внутривенного введения; по совершенствованию контроля иммунохимической чистоты иммуноглобулинов и их стабильности; изучению сенсibiliзирующих свойств иммуноглобулинов.

Большое внимание должно быть уделено совершенствованию качества антитоксических сывороток, обеспечивающему получение стандартных, высокоактивных, стабильных и менее анафилактических препаратов. Для улучшения лабораторной диагностики инфекционных болезней необходимо введение в практику более специфических и чувствительных агглютинирующих сывороток, диагностикумов, бактериофагов, дифференциально-элективных питательных сред.

ПРИНЦИПЫ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ЭНТЕРАЛЬНЫХ ФОРМ ВАКЦИННЫХ ПРЕПАРАТОВ

З. Ф. АБРАМОВА, А. А. ВОРОБЬЕВ, Г. Т. ПАТРИКЕЕВ

К настоящему времени на моделях живых и убитых вакцин убедительно показана перспективность чисто энтерального способа иммунизации. Большинство из введенных пероральным способом вакцин под воздействием ферментов желудка и низких значений рН быстро разрушается, теряя антигенность и специфичность. Следовательно, для успешной энтеральной иммунизации необходимо применять такие специальные формы препаратов, которые защищали бы антиген или вакцинный штамм от разрушения в желудке, и в то же время обеспечивали бы иммунизаторный эффект из кишечника.

Остановимся на характеристике наиболее важных моментов энтерального способа вакцинации. В качестве основы для защитных покрытий используются различные вещества и препараты. В зависимости от природы этих веществ их можно разделить на три группы:

- 1) природные (жирные кислоты, жиры, смолы);
- 2) синтетические (ацетилфталат целлюлозы, метилфталат целлюлозы);
- 3) комбинированные, включающие представителей первой и второй групп.

Для нанесения защитного покрытия на препарат в практике используются различные технологические приемы, среди которых наиболее широко применяются следующие:

- 1) наслоение покрытия в дражировочном котле;
- 2) сухое напрессовывание;
- 3) распыление раствора-покрытия на таблетки во взвешенном состоянии.

К наиболее простому методу следует отнести наслоение покрытия в дражировочном котле, однако он является наименее щадящим, т. е. включает использование относительно высокой температуры и некоторых жидких препаратов, которые могут оказывать губительное влияние на живые вакцины.

Третий метод также не лишен перечисленных выше недостатков. С нашей точки зрения, наиболее перспективным нужно признать нанесение защитного покрытия сухим напрессовыванием, а затем напыление раствора-покрытия на таблетки.

В качестве материала для сухого напрессовывания мы изучали следующие смеси:

1) жирно-восковую смесь, предложенную Носовицкой и Сафиулиным в модификации Ефимовой. В ее состав входят: лактоза, тальк, каолин, стеарат кальция, какао, воск, стеариновая кислота, касторовое масло, 3%-ный крахмальный клейстер.

2) смесь, предложенную Борисенко, Обуховой, Сафиулиным. Она состоит из ацетилфталата целлюлозы, лактозы, стеариновой кислоты, желатинны, крахмала.

В качестве энтеросолюбильного покрытия весьма перспективны ацетилфталат и метилфталат целлюлозы, наносимые в виде растворов. Чаще всего применяют 5%-ный раствор ДФЦ в ацетоне (или смеси ацетона и этанола в соотношении 7:3). В качестве пластификатора берут 1%-ный раствор диметилфталата. Покрытие наносят 3—4 раза.

Можно выделить общие принципы конструирования энтеральных вакцин:

1. Энтеральная вакцина должна содержать необходимое количество антигена или вакцинного штамма в таблетке, достаточного для развития полноценного иммунологического процесса.

2. Сохранение биологической активности в определенных пределах при различных температурах, удовлетворяющее требованиям хранения и транспортировки вакцины.

3. Разработка специальной формы препарата, обеспечивающей энтеральное применение и последующую выработку иммунитета.

4. Безвредность для организма и отсутствие неблагоприятного действия на вакцинный штамм вспомогательных веществ, входящих в состав наполнителя таблетированной формы препарата.

5. Необходимые физические свойства препарата, обеспечивающие прочность при хранении и транспортировке, а также распадаемость в кишечнике и сохраняемость в желудке в течение 3 часов.

6. Таблетированные препараты должны обладать приятными вкусовыми качествами.

7. Энтеральные вакцины не должны содержать патогенных микробов кишечной группы и гемолитического стрептококка. Допускается содержание посторонних непатогенных живых микробов в количестве не более 15 тыс. на таблетку.

8. Технологичность и экономичность получения таблетированной формы препаратов.

НЕКОТОРЫЕ ПРОБЛЕМЫ РАЗРАБОТКИ ХИМИЧЕСКИХ ВИРУСНЫХ ВАКЦИН

Ф. Г. ИСУПОВ

Уфимский научно-исследовательский институт вакцины и сывороток
им. Н. И. Мечникова

В настоящее время появились четкие указания на особую эффективность моноантигенных химических вакцин против ряда бактериальных и риккетсиозных заболеваний человека (Здродовский, 1974). За рубежом ведутся работы по получению вакцин из антигенов различных вирусов. Нами в 1969—1972 гг. также был разработан один из вариантов химической гриппозной вакцины. Она была испытана в опытах на волонтерах и оказалась малореактогенной и достаточно иммуногенной, что позволило рекомендовать ее для прививок доноров в производстве специфического противогриппозного иммуноглобулина и лиц из группы повышенного риска (больных хроническими заболеваниями и людей пожилого возраста).

При организации широкого производства этого препарата необходимо учитывать способ получения вирусного материала. Без сомнения, пока лучшим из них остается выращивание вируса на куриных эмбрионах. Хотя в данном случае мы имеем дело с использованием пищевого сырья, высокий выход вируса, относительная изученность методов очистки и подготовленность институтов к работе с куриными эмбрионами позволяют достичь наиболее высоких экономических показателей.

Способы очистки вируса должны быть многоступенчатыми, ведущими к получению гомогенной суспензии без конгломератов из вирусных частиц. По зарубежным данным, методом выбора могло быть центрифугирование в высокопроизводительных проточных роторах центрифуг марки «К» фирмы «Нуклеоникс», однако подобное оборудование пока недоступно в наших условиях.

Изучение способов дезинтеграции показало, что лучшим из них является использование безостаточного растворителя

липидов — эфира. Введение в вакцинный материал различных детергентов (твин, дезоксихолат, додецилсульфат, сапонины) вызывает необходимость в дальнейших технологически трудных приемах удаления их из вируссодержащего материала.

Вопросы разделения антигенов дезинтегрированного вируса окончательно не решены. Разрешение их может быть частично достигнуто с помощью хроматографии, в частности, путем промывки частиц гидроокиси алюминия растворами с увеличенной концентрацией хлористого натрия. По-видимому этот прием является достаточно универсальным, но требует для каждого вируса и каждого сорбента установления собственных технологических параметров, тем более, что разделение антигенов должно сочетаться с дополнительной очисткой от белков клетки-хозяина, прочно связанных до дезинтеграции с вирионом.

Вторичное корпускулирование антигенов позволяет добиться адьювантного действия вакцины, так как наиболее подходящим материалом для этой цели, как показали наши исследования, является гидроокись алюминия, состоящая из частиц со средним диаметром около 5 мк. Получение сорбента с заданными размерами частиц будет способствовать в значительной степени стандартизации иммуногенных свойств химических вакцин.

Создание моноантигенных химических вакцин из вирусов гриппа, клещевого энцефалита и других вирусов может способствовать их использованию в качестве факультативных антигенов существующих комплексных препаратов типа АКДС-вакцины и полианатоксинов. Так, известно, что молодые люди, призываемые в армию, часто болеют гриппом в течение первого года службы. Нами был добавлен сорбированный гриппозный антиген типа А в два варианта комплексного препарата. Оба исследованных образца обладали достаточными антигенными свойствами по гриппу, а иммунологическая активность всех шести анатоксинов и брюшнотифозной вакцины соответствовала существующим требованиям.

Использование подобных препаратов с переменным составом в практике могло бы производиться с учетом экологической и эпидемиологической обстановки.

НОВОЕ В ПРОБЛЕМЕ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

Е. Н. ЛЕВКОВИЧ

Институт полиомелита и вирусных энцефалитов АМН СССР, Москва

Поиски путей эффективной специфической профилактики клещевого энцефалита были центральным вопросом с первых лет изучения данного заболевания в нашей стране. В условиях контролируемого опыта, проведенного в Кемеровской области в 1961—1967 гг. (Львов, Гольдфарб) была достигнута приемлемая эпидемиологическая эффективность вакцинации культуральной вакциной, а также снижение паралитических форм клещевого энцефалита при условии максимального охвата прививками контингентов населения, подлежащих риску заражения КЭ. Однако эффективность вакцинопрофилактики еще сильно варьирует. На фоне общего снижения заболеваемости в областях Урала и Западной Сибири обращает на себя внимание активизация в последние годы КЭ на Дальнем Востоке — в Приморском крае, а также на западе — в республиках Прибалтики и повышение числа паралитических форм заболевания.

Бурные темпы хозяйственного освоения новых территорий в пределах ареалов очагов КЭ, становление вторичных антропоургических очагов инфекции в результате обживания тайги и массовый бытовой контакт населения с лесом ежегодно увеличивают потенциальные возможности роста заболеваемости. Требуется дальнейшее усовершенствование вакцинопрофилактики по линии технологии производства культуральной инактивированной вакцины, а также способов применения препарата. Ведущее значение в эпидемиологической активности может иметь штамм вируса, используемый в производстве. В ряде исследований установлено, что в очагах клещевого энцефалита циркулируют штаммы, отличающиеся по выраженности ряда генетических признаков, определяющих вирулентность штаммов. Выявлены различия штаммов по антигенной активности (авидности), выражающейся скоростью, полнотой и прочностью связи с антителами иммунной сыворотки, это должно учитываться при подборе штаммов-кандидатов в вак-

шинные (Зубенко, 1974). По генетическому признаку, определяющему чувствительность к декстрасульфону (ДС), удалось разделить штаммы вируса КЭ на две группы: персульфатусовую (ДС⁻) и риниусовую (ДС⁺). Деление штаммов на две группы не совпадает с существующим делением на западные и восточные варианты и связано с видом клещей (Дживанян с соавт., 1974). Специальному изучению подлежит сравнение эффективности вакцины из штаммов Пан и Софьи с учетом районов их использования, а также подбор новых штаммов.

Использование клеточного субстрата эмбрионов для получения культурального вируса в производстве вакцины также нуждается в пересмотре. Эти клетки весьма часто контаминированы лейкозными вирусами кур, которые вступают в интерференцию с вирусом КЭ, что сопровождается снижением его репродукции. В наших исследованиях показано, что более оптимальной в этом отношении является культура тканей японской перепелки и диплоидных клеток человека. Эффективным оказалось также использование культур перевиваемых диплоидных клеток эмбрионов и новорожденных животных (Чумаков с соавт., 1975). Для повышения антигенной активности и снижения реактогенности препарата показана очистка и концентрация вируса путем осаждения полиэтиленгликолем, ультрафильтрацией и другими приемами, позволяющими достигнуть высокой концентрации антигена. Необходимо усовершенствование схем вакцинации. Применение инактивированной культуральной вакцины связано с необходимостью многократного парэнтерального применения препарата. В эксперименте на животных (Левкович, 1943), а также в эпидемиологических наблюдениях показана эффективность комплексной вакцинации против КЭ, кишечных инфекций, оспы и туляремии (Карпов с соавт., 1975).

Наиболее совершенное решение проблемы профилактической иммунизации против КЭ может быть достигнуто созданием и применением живой вакцины. Действие убитых вакцин по всей видимости, ограничивается формированием лишь гуморального иммунитета, причем изменения, происходящие в вирусе в процессе инактивации, обуславливают неполноценность набора антител, возникающих после иммунизации убитыми вакцинами. Устойчивость иммунитета у вакцинированных лиц в значительной степени зависит от латентного инфицирования в результате постоянного контакта с очагами КЭ.

Разработке методов получения аттенуированных вариан-

тов вирусов комплекса КЭ для конструирования живой вакцины посвящены обширные исследования как в отечественных, так и в зарубежных лабораториях (Левкович, Карпович, Каупов и Ерофеев, Ильенко и Смородищев, Анджанаридзе, Богомолова, Дубов, Майер, Прайс и др.). В нашей лаборатории получен аттенуированный штамм Гр-21-237 вируса Лангат, в Томском НИИВСе — штамм Томский и Тюменском НИИКИПе — штамм Еланцев.

В наших исследованиях (Левкович, Карпович, Шермухамедова, Мамоненко, 1972—1975) установлено, что аттенуированные штаммы вирусов клещевого энцефалита и Лангат сохраняют видовую антигенную специфичность и обладают комплексом свойственных вирулентным штаммам детерминант, обуславливающих формирование комплементсвязывающих, антигемагглютинирующих, преципитирующих и вируснейтрализующих антител. В процессе иммунного ответа обезьян и других лабораторных животных динамика синтеза макро- и микроглобулиновых антител, индуцированных вирулентными и аттенуированными штаммами вирусов клещевого энцефалита и Лангат, является сходной. Сохранение структурно-функциональной антигенной общности аттенуированного и исходного вирулентного штамма обеспечивает формирование достаточно выраженного гуморального иммунитета к гомологичному вирусу, а также создание группового гетерологического иммунитета в условиях использования антигенно взаимосвязанных аттенуированных штаммов ряда флавивирусов. Наряду с этим получены результаты, свидетельствующие о том, что по своей видовой антигенной характеристике штамм Томский (ГИСК), как и штамм Еланцев, тождествен вирусам Лангат и существенно отличается от вируса КЭ (Рубин, Чумаков с соавт., 1975). В какой степени выявленные особенности названных штаммов связаны с перестройкой их биологии в результате аттенуации, остается не выясненным. В эпидемиологических наблюдениях установлена эффективность живой вакцины из штамма Еланцев. Однако наличие у части привитых лиц тяжелых нейротрофических осложнений исключило возможность дальнейшей реализации соответствующего препарата.

Освоение массового выпуска живой вакцины против клещевого энцефалита требует еще решения целого ряда неотложных задач, обеспечивающих безопасность применения со-

ответствующих препаратов. Важнейшими вопросами при этом являются разработка методов контроля, обеспечивающих безопасность вакцины в связи со спецификой аттенуированных штаммов, а также субстратов, используемых для изготовления выпускаемых препаратов, в особенности отсутствие в них онкогенных контаминантов. Существенно важным в проблеме живой вакцины против клещевого энцефалита является изучение иммунопатологических механизмов в развитии поствакцинальных осложнений, связанных с нарушением генетического контроля иммунного ответа, а также возможности развития хронических форм у вакцинированных людей. В этом направлении в нашей лаборатории и соответствующих лабораториях других институтов проводятся обширные исследования.

ОПЫТ ПРОИЗВОДСТВА ВАКЦИНЫ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

Л. А. ФЕДОРОВА, Р. А. ВИДИЛИНА, Г. П. ПРАСОЛОВА

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

Вакцина клещевого энцефалита культуральная сорбированная производится более 10 лет. Однако до сих пор нет стабильного препарата. Из 372 серий вакцины, выпущенных в 1971—1975 гг., 9 потеряли свои иммуногенные свойства в процессе хранения.

Исследования последних лет были направлены на изыскание условий, стабилизирующих специфические свойства вакцины клещевого энцефалита.

Первое направление — стандартизация процесса репродукции вируса во взвеси клеток куриного эмбриона. Второе — стандартизация условий сорбции.

Анализ инфекционной активности полуфабриката вакцины клещевого энцефалита за пятилетие по среднемесячным титрам, выраженным в логарифмах $LD_{50}/мл$, показал, что в течение ряда лет (1971, 1973, 1974) в весенне-летние месяцы имело место заметное снижение последних.

При изучении причин этого явления выяснено, что в мае 1974 г. две партии куриного яйца поступили из хозяйств, где в этот период поголовье кур было привито живыми вирусными вакцинами.

В связи с этим фактом указанное выше снижение инфекционной активности вируса клещевого энцефалита может быть вызвано интерферирующим действием живых вирусных вакцин.

Для исключения интерферирующего фактора при репродукции вируса клещевого энцефалита во взвеси клеток куриного эмбриона были использованы куриные эмбрионы из определенного хозяйства, где исключались прививки кур-несушек живыми вирусными вакцинами. В результате этого в 1975 г. в весенне-летние месяцы резкого снижения титра вируса мы не наблюдали. Кроме того, после проведения ряда усовершенствований в процессе репродукции вируса клещевого энцефалита удалось получить более стандартный полуфабрикат вакцины с высоким титром вируса.

Такой полуфабрикат имел и более высокую иммуногенную активность.

Из выпущенных 372 серий препарата только 10,7% имели пятизначный, 21,5% — шести-, 26,3% — семи-, 28,6% — восьми- и 12,9% — девятизначный индексы резистентности.

Сравнение иммуногенной активности по годам показывает, что серии вакцины выпуска 1975 г. обладают более высокой иммуногенностью. При этом 50,2% составили серии с шести—девятизначным индексом резистентности и лишь 5,6% — с пятизначным. Указанное можно объяснить тем, что полуфабрикат, использованный для названных серий, содержал более полноценный вирус в иммуногенном отношении и, кроме того, были стандартизованы условия сорбции препарата. А именно: нативная вакцина, как правило, имела рН 7,7—7,8, а добавляемый сорбент — рН от 6,5 до 7,0.

Все вышесказанное позволяет выработать определенные критерии, важнейшими из которых являются использование куриных эмбрионов от поголовья кур, не вакцинированных живыми вирусными вакцинами, и применение метода репродукции вируса в культуре клеток, подвергающихся постоянному перемешиванию.

При заготовке яйца для получения куриных эмбрионов не-

обходимо в договоре с поставщиком оговаривать исключение прививок кур-несушек живыми вирусными вакцинами.

Усовершенствования процесса репродукции вируса клещевого энцефалита позволяют получать стандартный и высокоактивный по иммуногенным свойствам препарат.

ГЕНЕТИКА ВАКЦИННЫХ ШТАММОВ АРБОВИРУСОВ И ПЕРСПЕКТИВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ЕЕ РАЗВИТИЯ

В. В. ПОГОДИНА

Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов АМН СССР, Москва

Вопросы генетики вакцинных штаммов следует рассматривать дифференцированно в 3 аспектах: 1) этап получения, отбора и стабилизации штаммов; 2) этап производства вакцины; 3) этап применения вакцины.

Тесты и критерии, используемые при этом, варьируют в зависимости от специфики конкретных живых и инактивированных вакцин.

На этапе получения живых вакцинных штаммов арбовирусов основными являются критерии аттенуации, иммуногенной активности, однородности популяции, генетической стабильности, которые оцениваются на высокочувствительных лабораторных моделях. В последние годы получены данные, свидетельствующие о необходимости использования дополнительных критериев с целью отбора специфически безопасных аттенуированных штаммов, обладающих высокой иммуногенной активностью и лишенных побочных иммунопатологических эффектов.

Особое значение приобрело изучение отдаленных показателей безопасности в связи с установленной в экспериментах на животных способностью многих тогавирусов, в том числе аттенуированных вариантов, персистировать и вызывать в ЦНС реакции типа подострого склерозирующего панэнцефалита (Злотник с соавт., 1971, 1972, 1973). Эти данные подкрепляются клиническими наблюдениями, а также прямыми доказательствами персистенции арбовирусов, полученными

при обследовании онкологических больных, подвергнутых химиотерапии с целью онколизиса. Так, вирус Западного Нила удается выявлять в инфекционной форме или в виде флуоресцирующего антигена в тканях больных людей в течение 3 месяцев (Сауза, 1967).

Большое внимание в последние годы уделяется изучению иммунопатологических потенций аттенуированных вариантов и инактивированных штаммов арбовирусов, в том числе их способности сенсибилизировать организм, и корреляция этого признака, оцениваемого по ряду аллергических тестов, с маркером нейровирулентности штаммов (Грачев с соавт., 1972; Семенов, 1972; Федоров с соавт., 1972; Васильева, 1975).

Особую актуальность приобрел также вопрос об изменчивости антигенной структуры вакцинных штаммов арбовирусов и выборе оптимальных антигенных вариантов. Прежние представления о высокой стабильности антигенных свойств арбовирусов претерпевают в последние годы значительные изменения. Расширилась информация о существовании серотипов и подтипов среди различных групп тогавирусов (ЕЕЕ, WЕЕ, VЕЕ, клещевого, японского энцефалита, Западного Нила и др.). Показано, что процесс пассажей в клетках различных хозяев приводит к изменению антигенной структуры штаммов модификационного характера, что связано, по-видимому, как с селекционными механизмами, так и с изменением поверхностных антигенов вируса. Установлено, что популяции ряда флавивирусов (японского энцефалита, Западного Нила) гетерогенны по антигенным маркерам, однако эта вариабельность лежит в пределах «нормы реакции» вида без нарушения видовых границ (Корешкова с соавт., 1972). В то же время нами получены доказательства возможности спонтанного возникновения стабильных межвидовых антигенных вариантов арбовирусов (клон 41/3Н+ЯЭ+), своеобразие которых детерминируется их генетическим материалом (Погодина, Корешкова, 1972, 1974). В свете изложенных данных представляется неясным механизм появления необычных антигенных характеристик у аттенуированных штаммов Томский и Елаицев, идентифицированных как вирус Лаугат (Рубин с соавт., 1975): селекционный, модификационный или мутационный механизм изменчивости признака антигенной специфичности исходных штаммов вируса клещевого энцефалита, как результат контаминации, или использование природных штаммов вируса Лаугат.

Все эти наблюдения свидетельствуют о важности антигенных маркеров при аттестации штаммовых популяций и их клональном анализе. Кроме общепринятых серологических тестов и РДПА, перспективными являются методы дифференциации серогрупп и штаммов, основанные на гибридизации нуклеиновых кислот, анализе структурных полипептидов в полиакриламидном геле и анализе неструктурных вирусных белков. На важность выбора вакцинных штаммов адекватной антигенной структуры указывает история вспышек венесуэльского энцефаломиелиита в Центральной Америке, где интродукция вирулентных штаммов вируса нового серологического типа обусловила тяжелые эпидемии (Фрэнк, Джонсон, 1971).

Требуют усовершенствования также методы исследования популяционной структуры вакцинных штаммов, которые часто ограничиваются выяснением однородности популяции по S-маркеру. Необходимо изучение дефектных и зрелых компонентов популяции и их комплементационных и рекомбинационных взаимодействий.

На этапе производства вакцины особое значение приобретает режим консервации вакцинных штаммов, система посева вируса и исключение контаминации штаммовых популяций. Широкое распространение инфекционных вирусов-контаминантов тканей и генетической информации онкогенных вирусов — вплоть до безлейкозных линий кур и низкоракковых линий мышей — создает реальные предпосылки для контаминации. Нормальные ткани мышей, крыс, морских свинок и других позвоночных содержат в репрессированной форме генетическую информацию разнообразных эндогенных вирусов, отличающихся по серологическим свойствам, онкогенному потенциалу, кругу чувствительных хозяев. Так, в тканях мышей удается активировать по крайней мере 4 группы эндогенных вирусов, две из которых (Н- и В-тропные вирусы) являются экотропными и две — ксенотропными, способными реплицироваться предпочтительно в клетках чужеродных хозяев (Леви, 1973; Кэлэкен с соавт., 1975). Экзогенные вирусы, в том числе культивируемые вакцинные штаммы, могут стать факторами дерепрессии этих эндогенных вирусов.

Ярким свидетельством возможности генетического взаимодействия между вакцинным штаммом и онкогенным вирусом-контаминантом является гибрид аденовируса типа 7 и ОВ40,

который был получен спонтанно при культивировании вакцинного штамма на контаминированных клетках и представлял собой продукт молекулярной гибридизации указанных вирусов (Хюбнер с соавт., 1964; Баум с соавт., 1966).

На этапе применения вакцины изучение генетики вакцинных штаммов включает контроль их стабильности в условиях вакцинального процесса, возможность распространения ревертантов переносчиками, учет возможности взаимодействия вакцинных штаммов друг с другом, если применяются ассоциированные вакцины, а также с экзогенными и эндогенными вирусами прививаемого организма. В этом случае вакцинный штамм может выполнять роль ингибитора, стимулятора и модификатора функций сопутствующих вирусов и сам претерпевать изменения. В свете последних данных Жданова с соавт. (1974, 1975) о механизме интеграции РНК-содержащих вирусов в геноме клетки можно представить, что вакцинный штамм при определенных условиях персистенции окажется готовой экзогенной матрицей для паработки ДНК-транскриптов.

Большое значение для проявления остаточной вирулентности штаммов, а также модификации патогенеза и иммуногенеза вакцинального процесса может иметь измененная реактивность прививаемого организма, в том числе вирус-индуцированная иммунодепрессия, обусловленная возбудителями хронических и острых вирусных инфекций — гриппа, цитомегалии, РНК- и ДНК-содержащими онкогенными вирусами и др. В нашей лаборатории показано, что на фоне иммунодепрессии, вызванной лейковирусами, непатогенный для мышей альфавирус Синдбис приобретает способность к репродукции в тканях этих животных, а патогенез инфекции, вызванной аттенуированными и вирулентными штаммами вируса Западного Нила, модифицируется в сторону усиления висцеральной фазы и подавления невральской фазы инфекции. Этот фон не влияет на гуморальный иммунитет, индуцированный живым вирусом, но подавляет продукцию антител (преимущественно антигемагглютининов) при иммунизации инактивированной вакциной против японского энцефалита.

Приведенные материалы характеризуют перспективные направления исследований, которые могут явиться научно-методической основой усовершенствования системы отбора и контроля вакцинных штаммов арбовирусов.

НЕКОТОРЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ВИРУСОВ КОМПЛЕКСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА И ИХ ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ КОНТРОЛЯ АТТЕНУАЦИИ

В. С. ЕРОФЕЕВ, С. П. КАРПОВ

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

Взаимосвязь генетических признаков у различных по патогенности штаммов вирусов комплекса клещевого энцефалита (ККЭ) относится к числу сложных и еще малоизученных вопросов генетики вирусов. При этом основным показателем является соотношение «остаточной» нейровирулентности с другими маркерами, особенно определяемыми вне организма. Выявление этих взаимосвязей представляет значительный теоретический и практический интерес, так как в процессе изменчивости вирусов ККЭ всегда наблюдаются одновременные изменения не одного, а нескольких генетических признаков. В практическом отношении изучение этих вопросов и определение количественных критериев оценки генетических маркеров используют при контроле препаратов, содержащих аттенуированные штаммы.

Снижение нейропатогенности у вирусов ККЭ сопровождается значительной перестройкой их биологических свойств. Так, у аттенуированных нами вариантов вируса ККЭ произошло снижение нейровирулентности и инвазивности для мышей и других животных. В целом проблема безопасности аттенуированных вариантов решалась путем определения и количественной оценки генетических маркеров в опытах, таких как: нейропатогенность и инвазивность для мышей линии Балб, сирийских хомяков весом 35—40 г, поросят 5—6-недельного возраста и обезьян макака резус весом 1,6—2,0 кг, вирусемии и нейроморфологических изменений. В то же время антигенные и иммуногенные свойства аттенуированных штаммов должны быть выраженными и оцениваться положительными маркерами. Перечисленные тесты мы рекомендуем в качестве основных лабораторных критериев специфической безопасности и антигенной активности изучаемых штаммов.

На современном этапе исследования безвредность аттену-

прованных вариантов вирусов ККЭ уже не может оцениваться только в острых опытах. Необходимы исследования по отработке моделей и критериев, по которым можно было бы проверить вакцинный штамм на его потенциальные возможности вызывать хронический процесс.

В результате проведенных сравнительных опытов было выявлено определенное различие между аттенуированными и патогенными штаммами вируса по характеру репродукции их при повышенной температуре. Установлено, что повышение последней до 42° практически не вело к накоплению инфекционного вируса. Следовательно, селекционированные варианты обладали отрицательным маркером и представляли группу условно-летальных мутантов.

Ослабленные варианты были термолабильны. Так, прогревание их в течение 15 минут при 50° вело к снижению инфекционной активности на 3,5 и более lg ЛД₅₀. Следовательно они имели отрицательную характеристику. Последнее имеет значение не только при контроле, но и при разработке требований к условиям хранения аттенуированного вируса.

При изучении бляшкообразующей активности аттенуированных вариантов установлено, что в отличие от исходного патогенного штамма вируса произошел сдвиг от крупных к средним и мелким. Несмотря на отсутствие абсолютной корреляции между патогенностью и размером бляшек, все же метод негативных колоний необходим при оценке генетической однородности и стабильности аттенуированных вариантов вируса.

В наших опытах отмечена определенная зависимость интерферогенеза от генотипа штамма вируса и температуры инкубации инфицированных клеток и взаимосвязь его с маркером репродуктивной активности при температуре 42° . При определенных условиях постановки опытов контроля интерферирующая и интерферогенная активность могут быть приняты во внимание при оценке и характеристике степени аттенуации штаммов вирусов ККЭ.

Таким образом, в качестве основных критериев контроля аттенуированного вируса ККЭ мы рекомендуем: сниженную периферическую нейропатогенность и инвазивность для мышей линии Балб, апатогенность для сирийских хомяков, поросят и обезьян без значительных морфологических изменений при введении вируса в мозг, отсутствие или кратковременную

вирусемно и при достаточно высокой антигенной и иммуногенной активности. В дополнение к этому можно использовать ряд коррелирующих с патогенностью маркеров, как термолабильность, отсутствие репродуктивной и интерферирующей активности при повышенной температуре и в меньшей степени размер бляшек. Последний маркер важен при контроле однородности и стабильности аттенуированных вариантов.

ХАРАКТЕРИСТИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ДОПОЛНИТЕЛЬНО АТТЕНУИРОВАННЫХ ВАРИАНТОВ ВИРУСА КОМПЛЕКСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

А. В. ДУБОВ, Т. С. ГОРОЖАНКИНА, А. Я. ДУБОВА,
А. П. ГОЛОВКИНА, В. Я. ПОСТНИКОВА, Л. Б. КОЗЛОВ

Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии

В настоящее время весьма актуальной является проблема создания специфически безопасной для человека высокоэффективной живой вакцины против заболеваний, вызываемых вирусами ККЭ.

Используя разработанный в лаборатории метод селекции вирусов, мы получили дополнительно аттенуированные штаммы вирусов ККЭ со стабильными маркирующими признаками, определяемыми после проведения пассажей через мозг белых мышей или культуру ткани фибробластов эмбриона японской перепелки (ФЭП).

По маркирующим признакам, характеризующим вирулентность для обезьян макака резус и белых мышей, выделено 3 штамма вируса.

Штамм Исетск-26 утратил экстраневральную нейровирулентность для мышей весом 8—10 г, но сохранил особенность вызывать у обезьян, зараженных в головной мозг, даже небольшими количествами вируса (1,8—2,5 lg ЛД₅₀), очаговые заболевания ЦНС с развитием парезов и симптомов мозжечковой атаксии (опыт поставлен на 16 обезьянах).

Штамм Талица утратил способность вызывать у обезьян

(опыт поставлен на 14 животных) развитие заболеваний с летальным исходом, но остался довольно высоко вирулентным для мышей линии Балб/с при подкожном заражении и особенно для беспородных мышей.

Последний штамм (Е-30), по нашему мнению, является наиболее вероятным кандидатом для конструирования живой вакцины против заболеваний, вызываемых вирусами ККЭ. Штамм Е-30 селекционирован из изученного ранее штамма Еланцев. Этот штамм в процессе селекции утратил способность вызывать у обезьян, зараженных в головной мозг, даже максимальными количествами вируса ($6,0 \text{ Ig } \text{LD}_{50}$), очаговые заболевания головного и спинного мозга.

В опытах на беспородных мышках и амбредных линий Балб/с весом 10—12 г установлено снижение вирулентности штамма Е-30 при подкожном заражении по сравнению со штаммом Еланцев (кноп 15—20/3). Индекс инвазивности на беспородных мышках составил более 3,0 Ig.

Не отмечено усиления инфекционной активности штамма Е-30 после проведения 5 пассажей через мозг беспородных мышей. Эти данные могут иметь весьма важное значение при рекомендации штамма Е-30 в качестве кандидата в вакцинные.

Выявлена стабильность инфекционной активности вируса ККЭ (штамм Е-30) для мышей в течение 4 пассажей через культуру ткани ФЭП. После проведения дополнительных трех пассажей в этой культуре установлено снижение активности штамма для белых мышей, зараженных в мозг. Отмеченные факты свидетельствуют о том, что при рекомендации штамма Е-30 в качестве кандидата в вакцинные может быть допущено только непосредственное заражение культуры ткани ФЭП вирусосодержащей суспензией ткани мозга мышей.

При подкожном заражении беспородных белых мышей установлена низкая концентрация вируса в крови и лимфоузлах на 3-и сутки, появление вируса в головном мозге на 7-е сутки с нарастанием до 10-х, а затем снижение концентрации его в головном мозге к 14-м суткам.

Штамм Е-30 плохо размножался при температуре 42° . Признак gs_{42} отрицательный.

Бляшкообразующая активность штамма Е-30 была изучена в культуре ткани СПЭВ. Максимальная концентрация вируса составляла $6,0 \text{ Ig } \text{БОЕ/мл}$. Бляшки округлые, с неровными (размытыми) краями, размером в основном 1,2—1,5 мм. На 3—4-й день после появления отдельные экземпляры увели-

чивались до 2,0 мм. В сравнении со штаммом Еланцев (клон 15—20/3) вариант Е-30, очевидно, размножается медленнее и в связи с этим происходит медленное бляшкообразование.

У мышей, иммунизированных штаммом Е-30, установлено в РПГА нарастание антител к вирусу КЭ с 7-го до 18—25-го дня после иммунизации.

Показана очень высокая защитная эффективность штамма Е-30 в опытах испытания иммунитета мышей линии Балб/с весом 14—16 г с тест-штаммом Абсеттаров. После подкожного введения мышам линии Балб/с 1 внутримозговой ЛД₅₀ штамма Е-30 выявлена резистентность к 10—12 ЛД₅₀ вирулентного штамма Абсеттаров, введенного внутрибрюшинно, при иммунизации 10 ЛД₅₀ резистентность наступала к 1000 ЛД₅₀ и при 100 ЛД₅₀ штамма Е-30 — к 1000000 ЛД₅₀ вирулентного штамма Абсеттаров. Титры антител в сыворотках крови привитых животных к штамму Е-30 были в 4—16 раз выше, чем к штамму Абсеттаров.

Таким образом, представленные результаты исследований могут иметь весьма важное значение при рекомендации дополнительно аттенуированного штамма Е-30 в качестве кандидата в вакцинные.

ОСНОВНЫЕ ИТОГИ ПРОВЕДЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПО РАЗРАБОТКЕ АТТЕНУИРОВАННЫХ ШТАММОВ ВИРУСА ВОСТОЧНОГО ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТА ЛОШАДЕЙ В ТОМСКОМ НИИВСс

Р. Г. СОЛЯНИК

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцин и сывороток

С момента выделения вируса восточного энцефаломиелита (1933) предпринимаются попытки получения и изучения инактивированных вакцин. Вначале их готовили из мозга лошадей, морских свинок, кроликов, мышей, затем из тела куриных эмбрионов и на культуре тканей. Имеются единичные сообщения по получению аттенуированных вариантов этого вируса (Фомина с соавт., 1967; Броун с соавт., 1975).

В нашем институте начиная с 1968 г. предприняты исследования в направлении получения аттенуированных вариантов этого вируса. Лаптаковой (1972) показана возможность снижения вирулентных свойств вируса в результате пассирования его в культуре клеток куриного эмбриона при различных температурах. Выделенные ею варианты были полностью апато-генны при периферическом заражении белых мышей весом 7—8 г и сирийских хомяков весом 40 и 80 г, имели мелкобляшечную характеристику, обладали антигенными и иммуногенными свойствами (Лаптакова, 1971).

Нами изучено мутагенное действие четырех химических веществ, относящихся к классу алкилирующих соединений: нитрозометилмочевины, формальдегида, 1,4-бисдиазоацетилбутана и диметилсульфата (Соляник, Федоров, 1970, 1971; Соляник с соавт., 1971, 1972). Мутанты выделяли методом бляшек. Всего было изучено 118 вариантов вируса, из них 14 снизили и утратили патогенность при периферическом пути заражения. Самый высокий мутагенный эффект установлен при использовании диметилсульфата.

Изучены биологические свойства выделенных вариантов и отобраны два из них: ДМС-7 и ДМС-20 (Соляник с соавт., 1972). Оба варианта отличались от исходного штамма 2627 вируса восточного энцефаломиелиита сниженной вирулентностью при подкожном заражении лабораторных животных. Иммунизация кроликов вызывала образование в сыворотке крови вируснейтрализующих (1:14) и тормозящих гемагглютинацию (1:50) антител. Они создавали выраженную резистентность у сирийских хомяков к последующему заражению вирулентным штаммом. При инфицировании сирийских хомяков указанными вариантами вирус выделялся из крови (1,5 Ig ТЦД₅₀/мл), мозга (1,0 Iq ТЦД₅₀/мл), селезенки (1,5 Iq ТЦД₅₀/мл) и лимфоузлов (2,0 Ig ТЦД₅₀/мл) (Соляник с соавт., 1972).

Изучены патоморфологические изменения ЦНС сирийских хомяков и показаны менее выраженные энцефалитические изменения, вызванные вариантом ДМС-20, что послужило обоснованием для дальнейшего изучения указанного варианта (Дремов, Соляник, 1972). Селекционированные методом бляшек из варианта ДМС-20 варианты ДМС-20/3 и ДМС-20/6 отличались от родительского варианта большей аттенуацией в опытах на сирийских хомяках (Соляник, 1974). Показано, что оба варианта однородны по признаку размера негативных колоний, стабильны при пассировании в культуре тканей

и хранения в высушенном состоянии под вакуумом, хорошо размножаются в культуре клеток куриного эмбриона, в перевиваемых клетках (Д₆, HeLa, Нер) достигают титра 2,5—3,0 lg ТЦД₅₀/мл. Варианты термостабильны при 55°, не размножаются при температуре 42°, обладают выраженными иммуногенными свойствами. Установлена слабая нейровирулентность вариантов ДМС-20/3 и ДМС-20/6 для лабораторных животных с развитием умеренной воспалительной реакции (Федоров с соавт., 1974).

Предложено использовать полученные варианты для изготовления диагностикума и приготовления профилактических препаратов.

ХРОМАТОГРАФИЯ ВИРУСА ВОСТОЧНОГО ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТА ЛОШАДЕЙ (ЕЕЕ) И ЕГО АТТЕНУИРОВАННЫХ ВАРИАНТОВ НА КОЛОНКАХ С ДЭАЭ-ЦЕЛЛЮЛОЗОЙ И ФОСФАТОМ КАЛЬЦИЯ

Т. А. САВЕЛЬЕВА

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

Способность вирусных частиц адсорбироваться на веществах и вымываться с них в процессе элюции используется в качестве маркера при оценке степени аттенуации различных вирусов (Майер, Славик, 1965; Гендон, Данилова, 1970; Верета, Левкович, 1972).

В настоящем сообщении приводятся результаты исследований по изучению хроматографического поведения вируса ЕЕЕ и его вариантов: ДМС-20, ДМС-20/3, ДМС-20/6 с различной степенью аттенуации. Хроматографию на колонках с ДЭАЭ-целлюлозой осуществляли по методу, описанному Бернессе (1972). На фосфате кальция исследования проводили методом колоночной (Гинсберг, 1972) и бесколоночной (Карпова, Логинова, 1974) хроматографии. Элюцию осуществляли ступенчато. Для ДЭАЭ-целлюлозы использовали возрастающие концентрации хлористого натрия (от 0,05 до 0,6 М NaCl)

в 0,05 М трис-буферном растворе рН 7,4; для фосфата кальция — различной молярности фосфатные буферы (от 0,05 до 1,0 М) с рН 7,4. В собранных фракциях определяли инфекционную и гемагглютинирующую активность всех вирусов. Все наблюдения осуществляли трехкратно.

Проведенные исследования показали, что изучаемые нами вирусы полностью адсорбируются ДЭАЭ-целлюлозой и фосфатом кальция. Степень элюции всех вариантов с ДЭАЭ-целлюлозы различна. Так, штамм 2627 и его варианты (ДМС-20, ДМС-20/3) элюируют с последней на 5—7%, в то время как вариант ДМС-20/6 прочно удерживается сорбентом и вымывается с него в незначительном количестве. С максимальной инфекционной активностью штамм 2627 элюирует при 0,1—0,2 М NaCl. Титр фракций — 5,75 lg ТЦД₅₀/мл. Варианты ДМС-20 и ДМС-20/3 образуют два пика инфекционной активности, первый — при 0,2 М NaCl (6,5 lg ТЦД₅₀/мл) и 0,4 М NaCl (4,25 lg ТЦД₅₀/мл), второй — при 0,2 М NaCl (5,75 lg ТЦД₅₀/мл) и 0,5 М (4,5 lg ТЦД₅₀/мл). Вариант ДМС-20/6 в отличие от вышеуказанных штаммов элюируется с максимальным титром 2,25 lg ТЦД₅₀/мл только при 0,1 М NaCl. Увеличение ионной силы буферного раствора не влияет на степень элюции; последняя остается очень низкой. Гемагглютинины не выявлены ни для одного из изученных вирусов.

Хроматография на фосфате кальция не позволила установить различий по степени адсорбции и последующей элюции у штамма 2627 и его вариантов. Все вирусы элюируют с максимальной инфекционной активностью фракций (3,5—4,25 lg ТЦД₅₀/мл) при использовании 0,25, 0,3 и 0,9 М фосфатных буферных растворов.

Показано наличие гемагглютининов во фракциях 0,05 и 0,1 М фосфатных буферов.

Анализируя полученные результаты, можно сделать вывод о том, что штамм 2627 и его аттенуированные варианты полностью адсорбируются на ДЭАЭ-целлюлозе и фосфате кальция. Показана возможность использования ДЭАЭ-целлюлозы для установления различий между вирулентным штаммом и его аттенуированными вариантами.

Фосфат кальция не может быть рекомендован для выявления степени аттенуации вирусов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ВИРУСА ВЕНЕСУЭЛЬСКОГО ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТА И КОНСТРУИРОВАНИЕ ЖИВОЙ ВАКЦИНЫ

В. Д. ПОДОПЛЕКИН

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

Исследования по изменчивости вируса венесуэльского энцефаломиелита лошадей (ВЭЛ), одной из основных задач которых являлось получение аттенуированных вариантов его, были начаты в Томском НИИВСе в 1966 г. одновременно в двух направлениях: а) изменчивость вируса ВЭЛ в процессе пассажей в культуре клеток при разных температурах; б) индукция мутантов вируса с помощью некоторых химических мутагенов.

Изучение свойств предварительно полученных однородных клонов вируса ВЭЛ и неклонированной популяции его в динамике пассажей при различных температурах (Галахарь, 1968) показало, что таким путем могут быть получены варианты вируса с определенным сочетанием свойств, в том числе и обладающие сниженной периферической патогенностью для экспериментальных животных. Наряду с этим было установлено, что изменение свойств вируса обусловлено системой, в которой он размножается, и исходными свойствами пассируемого клона, а не температурой, которая является, главным образом, селективным фактором.

Варианты вируса ВЭЛ со сниженной периферической активностью были получены также и при воздействии на него рядом химических мутагенов (Соляник, 1969), в частности, при обработке вируса азотистой кислотой и его репродукции в присутствии формальдегида, нитрозометилмочевины и этиленимина. Подобные мутанты, индуцированные двумя последними соединениями, обладали малой способностью размножаться в организме экспериментальных животных и, как следствие, слабой иммунологической активностью. Мутанты, полученные воздействием азотистой кислоты и формальдегида, вызывали появление у иммунизируемых животных достаточно высоких титров антител и развитие выраженной рези-

стенности к последующему заражению их вирулентным штаммом.

Дальнейшими исследованиями было выяснено (Марченко, 1974), что популяции как температурных, так и химических мутантов неоднородны и содержат вирионы с высокой патогенностью для животных, число которых увеличивается при пассажах. Более того, оказалось, что мутанты, индуцированные азотистой кислотой, вообще нестабильны и быстро реверсируют, приближаясь по своим свойствам к вирулентному вирусу ВЭЛ.

Успешными оказались попытки селекционировать из температурных и формальдегидных мутантов стабильно аттенуированные варианты вируса. В результате этих опытов было получено 2 аттенуированных штамма вируса ВЭЛ, имеющих однородную по признаку патогенности популяцию и не меняющие своих свойств при пассажах как в культуре клеток, так и через организм животных. Оба штамма (204115 — «температурный» и 2621 — «формальдегидный») были полностью апатогенны при подкожном заражении мышей весом более 10 г, хомяков весом выше 80 г, крыс, морских свинок и кроликов. В 1000—10000 раз была ниже и интрацеребральная патогенность этих штаммов по сравнению с вирулентным вирусом ВЭЛ. Оба они обладали одинаковой иммуногенной активностью и при иммунизации животных даже минимальными дозами вызывали формирование у них очень высокой и продолжительной резистентности. Наряду с этим штаммы резко различались между собой по размеру бляшек, образуемых под обычным агаровым покрытием, термостабильности и способности размножаться при разных температурах.

Для конструирования живой вакцины ВЭЛ был избран штамм 2621. На его основе приготовлено и вестероние испытано несколько серий препарата. Установлено, что вакцина из штамма 2621 защищает привитых ею животных от очень высоких доз (до 6000000 ЛД₅₀ — максимальная испытанная доза) вирулентного вируса, вводимого как подкожными инъекциями, так и аэрозольным путем. Характерно также, что резистентность привитых животных была одинаковой в отношении различных вирулентных штаммов вируса ВЭЛ. Наиболее эффективными способами иммунизации вакциной из штамма 2621 оказались подкожный и аэрозольный. Положительные результаты получены и при пероральном введении препарата.

Подкожное и интерцеребральное заражение обезьян (1 600 000 ТЦД₅₀, т. е. 160 человеческими прививочными дозами) показало отсутствие у штамма 2621 свойственной «дикому» вирусу нейровирулентности и его ареактогенность.

Вакцина из данного штамма была испытана на добровольцах. Эти опыты также подтвердили ареактогенность препарата и его иммуногенную эффективность. Вируснейтрализующие антитела в крови у привитых сохранялись до 2 лет (срок наблюдения).

ИТОГИ ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ ВИРУЛЕНТНОСТИ АТТЕНУИРОВАННЫХ ВАРИАНТОВ АРБОВИРУСОВ, ПОЛУЧЕННЫХ В ТОМСКОМ НИИ ВАКЦИН И СЫВОРОТОК

Д. П. ДРЕМОВ

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцин и сывороток

Сравнительное патоморфологическое изучение инфекций, вызываемых вирулентными и аттенуированными штаммами вирусов клещевого энцефалита, восточного и венесуэльского энцефаломиелитов в Томском НИИ вакцин и сывороток, является с 1972 г. составной частью в комплексной характеристике указанных арбовирусов. Цель этих исследований состоит в выявлении морфологических особенностей соответствующих инфекций, которые могли бы характеризовать степень снижения вирулентности и нейротропных свойств у аттенуированных вариантов вирусов.

К настоящему времени проведены исследования на различных животных как в ближайшем (2—3 недели), так и в отдаленных периодах инфекций аттенуированными вариантами вирусов.

Клещевой энцефалит. Опыты на белых мышах и сирийских хомяках при подкожном заражении аттенуированными вариантами В-67 и ВЭ-4 вируса клещевого энцефалита (КЭ) показали, что инфекция протекает интранзитно у большинства животных. Гистопатологические изменения в цент-

ральной нервной системе (ЦНС) характеризуются замедленным развитием умеренной воспалительной реакции и глияльной пролиферации при отсутствии распространенных дегенеративных поражений нервных клеток, в то время как при инфекции тест-штаммом Абсеттаров доминируют острые некробиотические изменения нервной паренхимы, приводящие животных к гибели.

Внутриголовное заражение поросят теми же вариантами вируса вызывает развитие в ЦНС воспалительной реакции очагового характера без некробиотических поражений нервных клеток.

В опытах на обезьянах (26 особей) при внутриголовном заражении выявленные в ЦНС изменения показывают различную степень снижения нейровирулентности у вариантов В-67, ВЭ-4 и штамма Томский вируса КЭ. Последний штамм вируса вызывает более значительные поражения нервных клеток по сравнению с первыми.

Изучение ЦНС обезьян через 2,5, 8,5 и 11,5 месяца после заражения аттенуированными штаммами вируса выявило длительное существование очагов с интраадвентициальной лимфоидно-полибластической инфильтрацией и глияльной гиперплазией, единичных фокусов дегенеративных изменений паренхимы. Значение этих изменений и механизм их развития требуют дальнейшего изучения.

Таким образом, морфологическое исследование ЦНС различных животных показало снижение нейротропных свойств у аттенуированных вариантов вируса КЭ. Способность варианта В-67 вызывать подострое или хроническое течение инфекции у хомяков изучается в настоящее время.

В о с т о ч н ы й э н ц е ф а л о м и е л и т л о ш а д е й. Аттенуированные варианты (4 представителя) вируса восточного энцефаломиелита лошадей (ЕЕЕ) изучены на сирийских хомяках, морских свинках, кроликах и обезьянах. Наиболее чувствительной моделью оказались хомяки. Морфологическим субстратом летальной инфекции вирулентным штаммом являются острые некробиотические поражения коры большого мозга, подкорковых узлов и верхних отделов ствола. При интранатальном течении инфекции аттенуированными вариантами вируса в ЦНС выявлены изменения в основном воспалительного характера без тяжелых и распространенных поражений нервных клеток. При этом в печени отсутствуют некротические поражения, которые имеют место при инфекции виру-

лентным штаммом. В селезенке и лимфоузлах наблюдаются изменения гистологической картины, свидетельствующие об активной иммуноморфологической перестройке лимфоидной ткани при инфекции аттенуированными вариантами и мелкоочаговые некротические поражения — при инфекции вирулентным штаммом. В мозге хомяков через 3 месяца после заражения вариантами имеет место инфильтрация сосудов и глияльная гиперплазия очагового характера, роль которых в патогенезе возможных осложнений изучается.

Внутриголовное заражение морских свинок аттенуированными вариантами вызывает летальный энцефалит. При этом не выявлено различий в темпах развития, степени выраженности и характере морфологических изменений мозга после заражения вирулентным и аттенуированными штаммами вирусов.

Опыты на кроликах показали менее острое развитие поражений мозговой ткани при интрацеребральном заражении аттенуированными вариантами по сравнению с вирулентным штаммом вируса ЕЕЕ.

Внутриголовное заражение обезьян аттенуированными вариантами показало развитие летального энцефаломиелиита, в морфологической картине которого преобладают некробиотические поражения нервной ткани, по существу, не отличающиеся от таковых после заражения вирулентным штаммом вируса.

Таким образом, морфологическое исследование ЦНС, печени и лимфоидных органов хомяков показало снижение вирулентности у аттенуированных вариантов вируса при подкожном заражении. Однако внутриголовное заражение морских свинок, кроликов и обезьян выявило морфологические изменения в мозге, свидетельствующие о сохранении выраженных нейротропных свойств у исследованных вариантов вируса ЕЕЕ.

Венесуэльский энцефаломиелит лошадей. Изучена морфология инфекции сирийских хомяков и кроликов в ближайшие и отдаленные сроки после подкожного заражения вирулентным штаммом и аттенуированным вариантом вируса. В морфологической картине инфекции хомяков вирулентным штаммом изменениям в ЦНС предшествуют распространенные некротические поражения селезенки и лимфоузлов, а в значительном числе случаев они доминируют и, по-видимому, определяют летальный исход заболевания. После

заражения хомяков аттенуированным штаммом вируса в половине случаев развивается целетальная инфекция, в морфологической картине которой также наблюдаются дегенеративные поражения лимфоидных органов, но они имеют очаговый характер и замещаются иммуноморфологической перестройкой этих органов. В центральной нервной системе при этом наблюдаются некробиотические поражения и выпадения нервных клеток пириформной и энторинальной коры. В мозге подопытных хомяков в сроки от 3 до 12 месяцев после заражения аттенуированным штаммом обнаружены очаги «поствоспалительного астроцитарного глиоза» (по В. К. Белецкому) с атрофией коры указанных отделов мозга и лимфоноблибластическая инфильтрация. Вирусный антиген в таких очагах методом флюоресцирующих антител, а также различными вирусологическими методами в эти сроки не выявлен, что ставит вопрос об участии в их формировании не только заместительного глиоза, но также других факторов, в том числе, возможно, иммунопатологических механизмов. У кроликов через 1,5 месяца после заражения аттенуированным штаммом изменения в ЦНС не обнаружены.

Таким образом, морфологическое изучение инфекции хомяков аттенуированным штаммом вируса венесуэльского энцефаломиелиита показало снижение его вирулентности. Для обоснования специфической безопасности этого штамма вируса проводится дальнейшее изучение механизмов развития очагов поражения в ЦНС в отдаленные сроки после заражения.

ИЗМЕНЕНИЯ В СОСУДАХ ГОЛОВНОГО И СПИННОГО МОЗГА ОБЕЗЬЯН ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОСТРОЙ И ПОДОСТРОЙ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ШТАММАМИ ВИРУСА КОМПЛЕКСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА С РАЗЛИЧНЫМИ БИОЛОГИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ

Б. К. ГИРС

Тюменский медицинский институт, Тюменский НИИКИП

В опыте на 92 обезьянах макака резус при интрацереб-

ральном заражении изучена патоморфология сосудов головного и спинного мозга в зависимости от биологических свойств 8 штаммов вируса комплекса клещевого энцефалита (ККЭ). Животным первой группы инокулировали 6 вирулентных штаммов вируса ККЭ, выделенных из иксодовых клещей Приморского края, Свердловской и Тюменской областей. Использовали также музейный штамм Абсеттаров. Во второй группе животных заражали естественно ослабленным штаммом Еланцев (клон 15—20/3) вируса ККЭ. В третьей группе обезьянам вводили штамм Абсеттаров на фоне предварительной пероральной иммунизации штаммом Еланцев.

Под световым микроскопом у всех животных изучали кору центральной извилины, подкорковые ядра, ствол, мозжечок, спинной мозг с применением обычных нейроморфологических, гистохимических, иммунофлюоресцентных методик.

Проведенные исследования показали, что сосудистые изменения по своему характеру являются однотипными для всех использованных в опыте штаммов вируса ККЭ. В самые ранние сроки наблюдения в просвете мелких сосудов ткани мозга и мягких мозговых оболочек, преимущественно венул, появляются различные формы мононуклеарных элементов, сегментоядерные лейкоциты, единичные делящиеся клетки. В дальнейшем в стенках венул развивается инфильтративный процесс с формированием так называемых муфт. В клеточном составе последних преобладают лимфоидные и переходные формы клеток, имеющие высокую активность кислой фосфатазы. Плазматические клетки составляют 0—28%. Крупные клетки-бласты встречаются от 0 до 8%. Имеются единичные, быстро гибнущие сегментоядерные лейкоциты, встречаются немногочисленные митозы. Со стороны клеточных элементов сосудистой стенки отмечается размножение гладкомышечных клеток и фибробластов. Эндотелий в процессах пролиферации не участвует, сохраняет высокую активность щелочной фосфатазы и иногда выглядит набухшим с резко пироннофильной цитоплазмой.

Муфты четко отграничены от ткани мозга аргирофильными ШИК-позитивными волокнами, которые оплетают клетку, образуя мелкопетлистую сеть. При заражении обезьян вирулентными штаммами вируса ККЭ иногда наблюдался «прорыв» пограничной мембраны и выход гематогенных элементов в окружающую ткань мозга. На периферии муфт выявляются не-

многочисленные фуксифильные коллагеновые волокна без признаков мукоидного набухания и фибриноидных изменений. Указанные поражения микроциркуляторного русла не сопровождались гемодинамическими нарушениями в виде плазмарагий и диапедеза эритроцитов.

Вокруг измененных сосудов наблюдалась резкая пролиферация астроцитов с набуханием и утолщением сосудистых ножек, явлениями клазматодендроза и клазматоза.

Применение метода специфической иммуофлюоресценции на антиген вируса ККЭ показало отсутствие свечения в пораженных и неизмененных сосудах и наличие его в нервных клетках.

В острый период болезни в зависимости от биологических свойств штаммов вируса ККЭ выявлены некоторые особенности сосудистых изменений в степени их выраженности, локализации и времени появления. Вирулентные штаммы вызывали различную по интенсивности сосудистую реакцию преимущественно в головном мозге, возникавшую к 3—4-му дню опыта в 100% случаев на фоне тяжелого поражения нейронов.

При подостром течении клещевого энцефалита, которое наблюдалось у обезьян после заражения естественно ослабленным штаммом Еланцев вируса ККЭ, сосудистые изменения возникали на 15—20-й день наблюдения и достигали максимума к 30—40-му дню у 67% животных в спинном мозге. В более поздние сроки (90—112 дней) в процессе инволюции инфильтратов в стенках пораженных сосудов с уменьшением гематогенных элементов увеличивалось количество гладкомышечных клеток и фибробластов, утолщался фуксифильный слой венул, что создавало морфологическую картину перекальцификации последних в артериолы.

У обезьян третьей группы отмечено резкое увеличение степени инфильтрации сосудистых стенок и изменение клеточного состава муфт за счет накопления макрофагов.

На основании полученных результатов можно предполагать, что сосудистая реакция в головном и спинном мозге обезьян при интрацеребральном введении вирусов ККЭ имеет иммунную основу, является выражением взаимодействия сенсибилизированных лимфоцитов и макрофагов с антигеном и направлена на создание местного тканевого иммунитета.

ИЗУЧЕНИЕ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ ВАКЦИНАЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРОТИВ ФЛАВИВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Б. Ф. СЕМЕНОВ, В. В. ХОЗИНСКИЙ

Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов АМН СССР, Москва

За последние годы накопилось много фактов, свидетельствующих о важной роли клеточного иммунитета в патогенезе вирусных инфекций (Аллисон, 1973). Однако материалов о формировании этого компонента иммунного ответа еще недостаточно.

Мы исследовали динамику формирования клеточного иммунитета у мышей при вакцинации против клещевого энцефалита и желтой лихорадки. В первом случае использовали инактивированную адсорбированную на гидроокиси алюминия культуральную вакцину, во втором — аттенуированный штамм 17. Клеточный иммунитет определяли в опытах *ин виро* и *ин vivo*. Реакцию подавления миграции спленоцитов ставили по ранее описанному методу (Семенов с соавт., 1974). Повреждающую активность исследовали в опытах на сингенных мышах (Хозинский с соавт., 1975). Установлено, что вакцина против клещевого энцефалита индуцирует у мышей гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ) через 4 дня после двух прививок с интервалом в 24 часа. Появление ГЗТ совпадало с развитием гуморального ответа. Титр антигеммагглютининов на 4-е сутки после окончания вакцинации равнялся 1:40. ГЗТ прослеживалась до 20-го дня, антитела сохранялись до конца месяца (срок наблюдения).

Спленоциты вакцинированных мышей обладали повреждающей активностью *ин vivo*. После внутривенного введения 10^7 клеток наблюдали сокращение средней продолжительности жизни мышей, зараженных вирусом клещевого энцефалита на фоне подавленного иммунитета.

Наши опыты показывают, что клеточный иммунитет развивается при вакцинации мышей аттенуированным вирусом желтой лихорадки. ГЗТ у привитых животных обнаруживали с 8-го по 30-й день включительно. Исследования через 2 месяца дали отрицательный ответ. Отмечено, что после введе-

ния штамма 17-Д гуморальный иммунитет сохраняется дольше, чем клеточный. Антитела у привитых мышей обнаруживали в течение 60 дней (срок наблюдения).

В опытах *in vitro* изучена специфичность клеточного иммунитета у вакцинированных животных. При постановке перекрестной реакции подавления миграции показано, что сиенциты, сенсibilизированные к вирусу клещевого энцефалита или аттенуированному вирусу желтой лихорадки, не реагировали на вирус Синдбис. В то же время с помощью этой реакции показано наличие общих антигенов у вируса клещевого энцефалита и вируса Лангат, а также отличие вируса клещевого энцефалита от вируса Денге типа 2 и вируса желтой лихорадки.

Таким образом, нами продемонстрировано, что две применяемые для массовой профилактики вакцины могут в условиях эксперимента индуцировать развитие клеточного иммунитета. Значение этого явления в развитии резистентности к заражению требует дальнейшего изучения.

ПРОБЛЕМЫ ВИРУСНОЙ АЛЛЕРГИИ В ТОМСКОМ НИИВСе

О. А. ВАСИЛЬЕВА

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцин и сывороток

Исследования, посвященные изучению формирования аллергии, сенсibilизации и развитию аутоиммунных процессов при вирусной инфекции и вакцинации, проводятся в Томском НИИВСе почти 20 лет. Они затрагивают формирование указанных процессов, индуцируемых различными группами возбудителей: арбовирусов группы А и В, аренавирусов, поксвирусов.

С 1958 г. академиком АМН СССР С. П. Карповым совместно с рядом сотрудников (Стеткевич, Терентьев, Нестеров, Мурина, Селезнева, Явья и др.) изучается аллергия, вызываемая одним из представителей арбовирусов группы В — вирусом клещевого энцефалита. Показана возможность использования внутрикожной аллергической реакции для диагностики

заболевания и выявления специфической перестройки организма при вакцинации и контакте вирусом при нахождении в природных очагах инфекции.

Предложен внутрикожный аллерген вируса клещевого энцефалита, который с целью диагностики был испытан у 675 больных и в 75,4% случаев получен положительный результат. Отмечено, что возникновение и течение аллергии зависит от формы заболевания. Иммунизация людей мозговой вакциной против клещевого энцефалита индуцирует специфическую аллергию в 50,6% случаев в течение первых трех месяцев после вакцинации. Эта реакция была использована и для определения иммунологической структуры населения в очагах инфекции. В зависимости от интенсивности циркуляции вируса клещевого энцефалита реакция аллергии наблюдалась положительной от 19,6 до 90,9%.

Показано (Карпов, Селезнева, Галахарь, 1967), что возникающая аллергия должна быть отнесена к гиперчувствительности замедленного типа, так как наличие ее доказывается не только кожной пробой, но и показателем повреждения нейтрофилов крови (ППН). Выявлена (Васильева, 1967) практически равная специфическая аллергическая перестройка экспериментальных животных при вакцинации их препаратами против клещевого энцефалита, приготовленными с использованием различной основы (мозг мыши, культура клеток куриного эмбриона). При комплексной вакцинации экспериментальных животных (Карпов, Ерофеев, Лоншакова, 1970) и людей (Васильева, Аксененко, Шипулина, Ратнер, Менявцева, 1973, 1975), также формируется специфическая аллергия, равноценная по выраженности процесса, наблюдаемого при введении одной вакцины клещевого энцефалита.

С 1968 г. нами совместно с рядом сотрудников ТомНИИВСа (Бекетова, Ставицкая, Шипулина, Мурина, Ярославцева и др.) и ТМИ (Дорошенко, Терентьев, Могильников, Гулина, Лепехин) стали более широко использоваться современные методы аллергодиагностики *in vitro* для изучения аллергии при клещевом энцефалите, оспе и ряде арбовирусов.

Показано, что инактивированная культуральная вакцина клещевого энцефалита при ревакцинации людей вызывает образование аутоантител, умеренное повышение ППН и увеличение уровня гистамина крови. По сравнению с результатами экспериментов на животных у людей данный препарат стиму-

лирует более выраженный аутоиммунный процесс и количественное нарушение гистамина крови.

У больных клещевым энцефалитом наблюдается закономерное изменение изученных тестов аллергической перестройки организма. Так, в острой стадии процесса индекс ППН равняется $0,12 \pm 0,01$, причем % положительных реакций был отмечен у половины больных. В дальнейшем интенсивность специфической аллергии нарастала активнее для менингеальной формы заболевания. Реакция лейкоцитолита была также значительно повышена весь период заболевания, причем к моменту выписки наблюдалось некоторое снижение показателей при стертой форме. В крови больных определялись в 44—80% случаях аутоантитела, и уровень гистамина достигал в тяжелых стадиях величины $0,92—1,0$ мкг/мл, тогда как у здоровых людей он соответствовал $0,44 \pm 0,02$ мкг/мл. Таким образом, сдвиг изученных показателей коррелировал с тяжестью болезни и к моменту клинического выздоровления оставался довольно высоким.

Иммунизация кроликов активным вирусом клещевого энцефалита сопровождалась выраженным образованием аутоантител, повышением ППН (а для сирийских хомяков — увеличение лейкоцитолита) и накоплением в крови гистамина. Изменения названных тестов сенсибилизации организма находились в определенной зависимости от степени патогенности инокулированного штамма вируса.

Проводились исследования по изучению сенсибилизации организма рядом представителей арбовирусов группы А. Так, изучалось образование аутоантител при иммунизации экспериментальных животных различными вариантами вируса восточного энцефаломиелиита лошадей (Федоров, Соляник, Ермолаева, 1972, 1974; Бекетова, Ставицкая, Соляник, 1975). Показано, что патогенный штамм 2627 и его слабо аттенуированный вариант ДМС-20 индуцируют этот процесс, тогда как высоко аттенуированный штамм ДМС-20/6 вызывал кратковременное аутоантителообразование. Найдено (Бекетова, 1973), что концентрация гистамина в крови животных значительно изменялась (с 6,3 до 13 мкг/мл) только в ответ на введение патогенного штамма.

Аналогичные данные получены при инфицировании кроликов штаммами вируса венесуэльского энцефаломиелиита лошадей разной степени патогенности (Бекетова, 1973; Марченко, Бекетова, Подоплекин, 1975). По влиянию на уровень

гистамина различаются как патогенный штамм вируса вене-суэльского энцефаломиелиита лошадей. Эталонный от ослабленных штаммов 204115 и 2621, так и указанные аттенуированные штаммы между собой.

Начаты первые исследования по выявлению аллергенных свойств у аренавирусов. Подоплекина (1974) наблюдала местную реакцию замедленного типа у животных, сенсибилизированных вирусом лимфоцитарного хориоменингита. Автор делает вывод о специфичности внутрикожных проб на экспериментальных животных (кролики, морские свинки), что дает основание предполагать наличие аллергенных свойств и у вируса ЛХМ.

Нами совместно с рядом сотрудников (Замойская, Егоршина, Ярославцева, Шипулина, Мурина и др.) изучалась аллергия при одном из представителей поксвирусов — вирусе вакцины. Проводились исследования по разработке оспенного аллергена для реакции повреждения нейтрофилов крови. Показано, что иммунизация кроликов оспенной вакциной индуцирует в их организме не только специфическое антителообразование, но и гиперчувствительность замедленного типа, выявляемую методом внутрикожной пробы и тестом ППН. Отмечена зависимость повышенной чувствительности лейкоцитов к оспенному аллергену в зависимости от штамма вируса, не используемого для сенсибилизации животных. В крови ревакцинированных против оспы людей повышался индекс ППН.

Противооспенная вакцинация животных (Бекетова, Ставицкая, Ярославцева) стимулирует значительное образование аутоантител и увеличение содержания гистамина в крови. Выраженность изученных показателей сенсибилизации организма находится в зависимости от свойств штамма, на основе которого приготовлен препарат.

Таким образом, вопросы вирусной аллергии нашли определенное отражение в научных исследованиях, проводимых в Томском НИИВСе. Они постепенно расширяются и в настоящее время охватывают круг вопросов, связанных с изучением арбовирусов группы А и В, аренавирусов и поксвирусов. По проблеме защищены 5 и проводятся исследования по 2 кандидатским диссертациям, опубликовано свыше 70 научных статей.

СЕНСИБИЛИЗИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

И. Х. СТАВИЦКАЯ

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцин и сывороток

Последние десятилетия ознаменовались значительными успехами в области клинической иммунологии и аллергии. Это позволило утверждать, что аллергия имеет значение в патогенезе большинства болезней (Райка, 1966), в том числе и при различных инфекциях. В то же время следует отметить, что возникновение повышенной чувствительности и ее роль гораздо лучше изучены при заболеваниях бактериальной этиологии. Вопрос о значении аллергии при вирусных инфекциях исследован гораздо меньше.

Задачей нашей работы было изучение аллергического состояния организма экспериментальных животных при введении им вируса клещевого энцефалита, репродуцированного в мозге белых мышей и культуре куриных фибробластов, а также больных этой инфекцией.

Так как внутрикожное введение аллергенов небезопасно для человека, мы применяли в своих исследованиях пробирочные методы. Для выяснения вида повышенной чувствительности, формирующейся при клещевом энцефалите, использовали тесты, которые, судя по литературным данным, выявляли определенный тип аллергической перестройки. Для диагностики гиперчувствительности замедленного типа изучены в динамике прямая и непрямая реакции дегрануляции тучных клеток и колебания уровня гистамина в крови. Замедленный тип гиперчувствительности выявляли с помощью показателя аллергической повреждаемости нейтрофилов и реакции лейкоцитоллиза. Кроме того, исследовалось образование аутоантител.

В экспериментах были использованы 130 кроликов, 50 сирийских хомяков, 50 белых крыс. Наблюдения проведены у 273 больных клещевым энцефалитом в эпидемические сезоны 1972—1975 гг. Для контроля те же анализы крови проделаны у 20 здоровых людей и 37 больных с другой патологией. Ис-

следования указанными тестами проводили в динамике в течение месяца.

Выяснено, что при введении экспериментальным животным вируса клещевого энцефалита в их организме происходит ряд аллергических изменений. Так, при инокуляции кроликам мозговой суспензии вируса клещевого энцефалита ППН через неделю увеличивается до $0,22 \pm 0,06$ ($p < 0,001$), сохраняется на том же уровне до 14 суток ($0,28 \pm 0,04$), затем происходит нормализация показателя. Параллельно отмечено нарастание индексов ППН к контрольному препарату.

Подобные изменения у хомячков, зараженных вирусом клещевого энцефалита, получены в реакции аллергического лейкоцитоза.

Тесты, свидетельствующие об изменениях, характерных для аллергии немедленного типа, также показали положительные результаты. Реакция дегрануляции тучных клеток была повышенной на 5, 7 и 14-е сутки у кроликов. В прямом тесте дегрануляции тучных клеток у крыс, зараженных вирусом, изменения отмечены в первые два дня после начала опыта; к недельному сроку наступает нормализация.

В наших экспериментах отмечено, что после введения вируса происходит увеличение количества гистамина в крови. В ответ на введение вируса, репродуцированного в мозге белых мышей, нарастание концентрации амина более значительно, чем при инокуляции культурального вируса. Кроме того, установлено, что патогенные штаммы (Софьин и Пап) вызывают более значительное повышение содержания гистамина, чем аттенуированный штамм Томский.

Такие же закономерности выявлены при изучении аутоантителообразования у этих животных.

В дальнейшем были проведены исследования по выяснению аллергических свойств трех различных компонентов вирусосодержащей взвеси мозгового и культурального вируса. Фракционирование популяции вируса проведено в лаборатории биофизических методов исследования. Применен метод ультрацентрифугирования в ступенчатом градиенте плотности сахарозы.

Введение кроликам этих фракций вирусосодержащей взвеси мозгового и культурального вируса вызывает сенсибилизацию. Более значительное повышение индексов клеточных тестов зарегистрировано при инокуляции I и III проб, начиная с 3 суток на протяжении 2 недель опыта. Увеличение уровня

гистамина отмечено у кроликов первой и второй групп (до 10,6 мкг/мл, $p < 0,05$). Аутоантителообразование более выражено у животных, получивших I и III фракции вирусной взвеси. Таким образом, выяснено, что сенсibilизирующими свойствами обладают все компоненты вирусной суспензии, но степень их выраженности проявляется по-разному.

На основании исследований, проведенных у больных клещевым энцефалитом, установлено, что у них имеются аллергические изменения, сходные с таковыми у экспериментальных животных. Клеточные аллергические реакции (ППН, лейкоцитоз) были положительными уже в ранние сроки болезни (в среднем 3—5 суток) и оставались повышенными весь период наблюдения до выписки. Следует отметить, что и в этих реакциях постоянно отмечались положительные результаты и на контрольный антиген.

Выяснено, что при клещевом энцефалите развивается аутоиммунный процесс, более выраженный при менингеальной форме болезни, по сравнению со стертой.

Изучение уровня гистаминаемии показало, что у больных происходят значительные сдвиги в обмене гистамина. Увеличение концентрации этого вещества в крови зависело от сроков исследования и тяжести болезни. Более выраженное парастание содержания гистамина отмечено в начале болезни и во второй срок исследования. К выписке не наступало нормализации уровня амина в крови.

Таким образом, исследования показали, что у больных клещевым энцефалитом и экспериментальных животных при введении им этого вируса происходит формирование гиперчувствительности замедленного и немедленного типов, а также аутоиммунного процесса.

ВИРУСНАЯ СЕНСИБИЛИЗАЦИЯ ЛИМФОИДНЫХ КЛЕТОК КАК ОДИН ИЗ КРИТЕРИЕВ ОЦЕНКИ ПАТОГЕННЫХ СВОЙСТВ ШТАММОВ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

С. К. ПЕРЕХОДОВА

Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций

В настоящей работе представлены результаты изучения гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), индуцированной штаммами вируса клещевого энцефалита, выделенными в западносибирских очагах инфекции от больных с различными клиническими формами заболевания. Цель исследования состояла в выявлении штаммовых различий в динамике и интенсивности клеточных реакций, лежащих в основе механизма ГЗТ, а также в определении возможной связи между последними и патогенными свойствами вируса клещевого энцефалита.

Клеточный иммунитет изучали в эксперименте на мышах с помощью модифицированного теста подавления миграции лимфоидных клеток в агаровой среде.

Для изучения патогенности штаммов были использованы такие генетические маркеры, как нейровирулентность для мышей при интрацеребральном и подкожном заражении, индекс инвазивности, интенсивность и продолжительность вирусемии, характер патоморфологических изменений и динамика накопления вируса в мозге экспериментальных животных.

Анализ данных, полученных в результате изучения клеточного иммунитета, связанного с различными штаммами вируса, показал наличие штаммовых особенностей в интенсивности сенсibilизации иммунокомпетентных клеток вирусом. По характеру динамики индуцируемого ими клеточного иммунитета изучаемые штаммы были разделены на три группы.

Штаммы всех трех групп вызывают раннюю, регистрирующуюся с первых суток после инфицирования животных сенсibilизацию спленоцитов. При этом для штаммов первой группы характерно нарастание интенсивности сенсibilизации на протяжении инкубационного периода заболевания, сменяющееся с 4—5-го дня постепенно усиливающимся состоянием частичной десенсibilизации. Подавление клеточных реакций

достигает максимума в терминальном периоде инфекции. Первая группа представлена в основном штаммами, выделенными от больных со стертой формой инфекции. Вторую группу составили штаммы от больных с поражениями оболочек и вещества головного мозга. Динамика клеточных реакций, вызываемых штаммами второй группы, характеризуется постепенным нарастанием интенсивности проявлений ГЗТ в течение всего периода заболевания без выраженного эффекта десенсибилизации. Максимум напряженности клеточный иммунитет достигает в период манифестации клинических проявлений. В третью группу вошли три штамма от больных со стертой и менингеальной формами инфекции, занимающие по интенсивности и характеру динамики развития ГЗТ промежуточное положение между двумя первыми группами.

Изучение патогенных свойств также выявило штаммовые различия по всем изученным наследственным признакам, характеризующим указанные свойства. Корреляция маркеров патогенности между собой выявлялась редко и носила при этом индивидуальный, штаммовый характер.

Принципиально важное значение представляло решение вопроса относительно связи показателей, определяющих интенсивность клеточных реакций, индуцированных различными штаммами вируса клещевого энцефалита, с маркерами патогенности.

Сопоставление в сравнительном аспекте результатов изучения специфической вирусной сенсibilизации иммунокомпетентных клеток, индуцированной штаммами всех трех групп, с признаками, характеризующими патогенные свойства, показало, что формирование клеточных иммунных реакций коррелирует с напряженностью вирусемии, но только на первой волне последней. На второй волне вирусемии у ряда штаммов отмечена обратная зависимость между степенью выраженности клеточных реакций и титрами вируса в крови.

Анализ результатов патоморфологического исследования мозга мышей, зараженных изучаемыми штаммами, показал, что выраженность сосудистых и пролиферативных изменений, регистрируемых в центральной нервной системе, как правило, соответствует интенсивности специфической сенсibilизации лимфоидных клеток.

Таким образом, установлена прямая связь между напряженностью клеточного иммунитета, индуцированного различными штаммами, и тяжестью клинического течения инфекции

у лица, от которого выделен штамм. В то же время установить коррелятивную связь между характером клеточного иммунитета и признаками, определяющими нейровирулентность, периферическую активность штаммов и степень инвазии центральной нервной системы, не удалось.

Из сказанного следует, что патогенетические потенции вируса клещевого энцефалита определяются не только и не столько признаками, характеризующими вирулентность и инвазивные свойства штаммов, сколько способностью последних вызывать интенсивную сенсibilизацию лимфоидных клеток.

Исходя из специфичности и хорошей воспроизводимости результатов изучения клеточного иммунитета при экспериментальной инфекции, считаем возможным рассматривать способность вируса клещевого энцефалита вызывать специфическую сенсibilизацию иммунокомпетентных клеток как один из генетических признаков данного вируса.

В связи с серьезным значением указанного признака в характеристике патогенетических свойств штамма считаем также целесообразным включение его в число обязательных тестов, используемых при отборе и изучении вакцинных штаммов.

ДЕЙСТВИЕ АРБОВИРУСОВ С РАЗЛИЧНОЙ СТЕПЕНЬЮ ПАТОГЕННОСТИ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ КЛЕТКИ

Т. Л. МИРЮТОВА, Е. А. ПЕШКОВА

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцин и сывороток

В течение 7 лет (1969—1975 гг.) в лаборатории культуры тканей Томского НИИВСа проводились исследования физиологического состояния клеток *in vitro* и *in vivo* под влиянием инфекции, вызванной арбовирусами с различной вирулентностью. Варианты вирусов венесуэльского (ВЕЕ), восточного (ЕЕЕ) энцефаломиелитов лошадей и клещевого энцефалита (КЭ) со сниженной патогенностью были получены путем направленного мутагенеза в нашем институте (Ерофеев, 1969; Соляник с соавт., 1972; Марченко с соавт., 1969).

Исследования проводились с целью выяснения возможных особенностей функционального состояния компонентов клеточных систем, инфицированных аттенуированными вариантами вирусов, часть из которых изучается с точки зрения рекомендации в качестве вакцинных штаммов.

Поскольку митотический режим отражает кинетику репродукции клеток и стоит в ряду показателей, свидетельствующих о физиологическом состоянии клеточной популяции, были изучены митотическая активность (МА), патологические митозы (ПМ), соотношение фаз деления, объем ядер и синтез ДНК в нормальных и инфицированных культурах клеток эмбрионов мыши (КЭМ), человека (КЭЧ) и хомяка (КЭХ).

Репродукция вируса сопровождается мобилизацией и расходованием пластических и энергетических ресурсов клетки, поэтому по величине активности ферментов инфицированных клеток в культуре и организме привитого животного можно судить о взаимодействии клетки с вирусом, особенно в динамике синтеза вирусных частиц до наступления цитодеструктивных изменений.

Нами изучена активность альдолазы, лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и глюкозофосфатизомеразы (ГФИ) в околоклеточной жидкости культуры клеток, а также в печени и селезенке инфицированных белых мышей.

Кроме того, в гомогенатах и культуральной жидкости клеток куриного эмбриона (ККЭ) изучался характер изменений изозимного спектра ЛДГ и уровень пуриновых кислот на фоне развития острой и латентной форм арбовирусной инфекции.

Вирусными антигенами как для клеток в культуре тканей, так и для исследуемых животных служили эталонный штамм вируса ВЕЕ и его аттенуированные варианты 2621 и 2041, патогенные штаммы вируса ЕЕЕ Билем и 2627 и аттенуированные варианты последнего НММ-8, ДМС-20, ДМС-20/31, а также патогенный штамм вируса КЭ Пап и аттенуированный штамм Томский.

Проведенные исследования позволяют сделать определенное заключение. Очевидно, часть изменений клетки, вызванных различными вариантами изученных вирусов, можно отнести к штаммовым особенностям последних, тем не менее несомненным является тот факт, что аттенуированные варианты при равных условиях инфицирования в большинстве случаев вызывают менее выраженные изменения как цитоген-

петических структур, так и биохимических показателей клеток. Патогенные штаммы изученных вирусов действуют в более ранние сроки после заражения и изменения, вызванные ими, необратимы или нормализуются позднее, чем те, которые вызваны аттенуированными штаммами. Среди изученных показателей физиологического состояния клеток в соответствующих сочетаниях клетка-вирус наиболее характерны следующие:

1. Патогенные штаммы вирусов кратковременно повышают МА клеток по сравнению с аттенуированными в системах КЭЧ—ВЕЕ, КЭМ—ЕЕЕ, КЭХ—ЕЕЕ и индуцируют больший процент аномальных делений.

Аттенуированный вариант ДМС-20 вируса ЕЕЕ обладает симпластообразующей способностью. Аттенуированные штаммы вируса ВЕЕ вызывают набухание ядер культуры КЭЧ. Кроме того, для каждой системы клетка-вирус обнаружены индивидуальные особенности.

2. Ферментативные сдвиги *in vitro* наиболее очевидны для ЛДГ и ГФИ, а *in vivo* — для альдолазы. Активность ЛДГ в околочлещочной жидкости культуры ККЭ и КЭЧ, инфицированных эталонным вирусом ВЕЕ, достоверно возрастает до наступления цитодеструктивных изменений клетки. Различия в изозимах этого фермента касаются изменений в анодной части спектра при инфицировании клеток патогенными вирусами ЕЕЕ и КЭ. ГФИ возрастает в системе ККЭ—эталонный вирус ВЕЕ также до наступления цитодеструкции.

3. Уровень нуклеиновых кислот и белка в гомогенатах ККЭ, инфицированных патогенными и аттенуированными вирусами ЕЕЕ и КЭ, снижается в определенные сроки, что связано с активацией синтеза компонентов вируса. Имеются некоторые особенности в действии патогенных и аттенуированных вирусов, которые выражаются в изменении уровня нуклеиновых кислот во времени.

Приведенные данные указывают на индивидуальные особенности каждой из исследованных систем клетка—вирус и тех функциональных сдвигов, которые вызывают изученные арбовирусы с различной патогенностью.

РАЗРАБОТКА И ПРИМЕНЕНИЕ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ И ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ КРЫМСКОЙ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКЕ

Ю. Ю. РЕЗНИКОВА, В. Д. РАБИНОВИЧ, И. М. БЛАГОВЕЩЕНСКАЯ,
Л. В. ЗАРУБИНА, В. В. КУЧИН, В. Н. МИЛЮТИН,
Г. А. ТАТАРСКАЯ, В. В. ТИМЧЕНКО, Т. Д. ЯНОВИЧ

Ростовский-на-Дону научно-исследовательский институт эпидемиологии,
микробиологии и гигиены, Ростовский медицинский институт

Надежный лечебный эффект при инфекционных заболеваниях обеспечивается этiotропной терапией, одним из направлений которой является применение в этих целях специфических иммунных сывороток и их производных — гамма-глобулинов.

В Ростовском очаге крымской геморрагической лихорадки (КГЛ) первоначально лечение больных осуществлялось сывороткой крови реконвалесцентов. Приготовление этого препарата связано с большими трудностями, поэтому в Ростовском НИИ эпидемиологии, микробиологии и гигиены разработан новый препарат для лечения и профилактики КГЛ — иммунный лошадиный гамма-глобулин. Этот препарат в опытах на животных проявляет вируснейтрализующую активность, в 1000 раз большую, чем сыворотки реконвалесцентов. При проверке превентивных и лечебных свойств показано, что лошадиный глобулин обладает хорошо выраженным защитным действием при введении за сутки до заражения и через 2 часа после инфицирования, через сутки после контакта животных с вирусом препарат защищает мышей значительно слабее.

Вируснейтрализующая активность его сохраняется в течение 3 лет без тенденции к уменьшению (срок наблюдения).

Лошадиный гамма-глобулин был применен на людях с лечебной и профилактической целью. Апробация его на больных и введение превентивно показали выраженное профилактическое и лечебное действие, а также полную ареактогенность.

Преимущество гипериммунного лошадиного гамма-глобулина — высокий титр специфических антител и возможность производственного выпуска препарата в практически неогра-

ниченном количестве. Существенный недостаток—вероятность анафилактической реакции при повторном применении.

Лошадиный специфический иммунный гамма-глобулин зарегистрирован как изобретение в Государственном Комитете Совета Министров СССР по делам изобретений и открытий. На него разработаны и утверждены ТУ-42 КВС и лабораторный регламент.

Эпидемиологическое обследование очага связано с широкими серологическими исследованиями населения и идентификацией выделенных в очаге возбудителей. Это определяет острую необходимость создания специфических неинфекционных высокоактивных препаратов (антигенов и иммунных жидкостей организма).

В РИЭМГ получен из мозга инфицированных вирусом КГЛ новорожденных мышей антиген, обработанный фреоном-113. Показано, что обработка вируссодержащей мозговой суспензии фреоном-113 позволяет получить высокоактивные антигены, реагирующие в реакции связывания компонента (РСК) до разведения 1:2048 и в реакции диффузионной преципитации в агаре (РДПА) до 1:32.

В ходе фреоновой обработки происходит инактивация инфекционного вируса КГЛ, так, что к концу обработки получается безопасный диагностикум, пригодный для серологических исследований в лабораториях практического здравоохранения, имеющий равную активность с высококонцентрированным специальной обработкой полиэтиленгликолем, сахарозоацетоновым антигеном КГЛ.

Антиген диагностический КГЛ (сухой) апробирован тремя институтами. При изучении природных очагов КГЛ в Ростовской области и Краснодарском крае обследовано в РСК 3656 сывороток крови людей, сельскохозяйственных и диких животных и в РПДА—11 594 сыворотки. При проверке различные серии антигена имели титры в РСК 1:512—1:1024, в РДПА 1:8—1:16. Во всех исследованиях отмечались строго специфические реакции. Азербайджанским НИИ вирусологии, микробиологии и гигиены этот антиген был использован при изучении очага инфекционного заболевания неясной этиологии, подозрительного на геморрагическую лихорадку. В этом случае также была показана строгая специфичность антигена.

В процессе хранения в жидком состоянии антигены с высокими титрами (1:2048—1:1024) снижали их в 2—4 раза че-

рез 6—12 месяцев после изготовления, у антигенов с более низкими титрами (1:512—1:128) они сохранялись более длительное время — 2 года (срок наблюдения). Лиофилизированный препарат независимо от величины первоначального титра сохранял ее без изменения в течение 2 лет.

На антиген диагностический крымской геморрагической лихорадки сухой утверждены ТУ-42 КВС и лабораторный регламент.

С целью приготовления препаратов для серологической идентификации вируса КГЛ была проведена иммунизация лошадей, ослов, морских свинок. Показана возможность использования лошадей и ослов в качестве продуцентов диагностических сывороток КГЛ. Морские свинки оказались непригодными для этой цели. Однако содержание КС-антител в сыворотках крови лошадей и ослов было невысоким — 1:4—1:32 и 1:4—1:16 соответственно, преципитирующие антитела продуцировались не у всех лошадей, в сыворотках крови ослов они обнаружены не были.

В связи с низким содержанием антител в сыворотках крови лошадей создан новый для этой инфекции препарат — диагностическая асцитическая жидкость, полученная в результате прививки иммунизированным вирусом КГЛ мышам саркомы 180-ТГ. Иммунные асцитические жидкости содержали КС-антитела в титре 1:320—1:640, а преципитирующие — 1:8—1:64. Активность мышинной асцитической жидкости превышает таковую лошадиных иммунных сывороток в РСК в 10—40 раз.

Асцитическая жидкость диагностическая КГЛ апробирована двумя институтами и в 1050 реакциях связывания компонента в экспериментах при идентификации вирусов показала строгую специфичность и высокий титр. Примененная в 250 РДПА, она также была строго специфична и сохраняла свой исходный титр.

На асцитическую диагностическую жидкость КГЛ сухую утверждены ТУ-42 КВС и лабораторный регламент.

ИЗУЧЕНИЕ АРЕНАВИРУСОВ И ОПЫТ РАЗРАБОТКИ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ В ТОМСКОМ ИНСТИТУТЕ ВАКЦИН И СЫВОРОТОК

Л. Е. ПОДОПЛЕКИНА

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцин и сывороток

Наиболее хорошо изученным из аренавирусов, как у нас в стране, так и за рубежом, является вирус лимфоцитарного хориоменингита (ЛХМ), прототип этой группы. В настоящее время доказана роль в этнологии тяжелых и порой опасных заболеваний человека таких аренавирусов, как ЛХМ, Ласса, Мочуно, Джунни, и остается неизвестной таковая у других представителей этой группы.

В Томском институте вакцин и сывороток исследования по изучению аренавирусных инфекций были начаты еще в 1948 г., когда Тюшнякова выделила вирус ЛХМ из спинномозговой жидкости больной с диагнозом арахноидит. В 1957 г. было изолировано еще два штамма вируса ЛХМ от больных с диагнозом менингоэнцефалит (Тюшнякова, Загროмова, 1960). Установлено наличие инфекции ЛХМ на территории Томска, Томской, Кемеровской областей, Алтайского края (Загромава, 1966; Тюшнякова, Загромава, 1966). Проведены исследования, доказывающие роль грызунов в передаче инфекции ЛХМ и наличие природных очагов ее на территории Западной Сибири (Тюшнякова, 1962; Федоров, Иголкин, 1959).

Вышеперечисленные исследования по изоляции вируса ЛХМ от больных людей и грызунов, а также доказательство наличия этой инфекции на территории Западной Сибири явились началом серьезной работы в Томском НИИВСе по созданию коммерческих препаратов для серодиагностики данного заболевания (Загромава, 1963; Тюшнякова, Загромава, 1966; Подоплекина, 1970—1975).

В связи с разработкой вопроса специфичности препарата изучена антигенная взаимосвязь вируса ЛХМ и клещевого энцефалита и показано отсутствие ее у этих вирусов. Установлена тесная антигенная взаимосвязь между штаммами вируса ЛХМ, выделенными в нашей стране и за рубежом, что позво-

ляет использовать любой штамм вируса ЛХМ для широкой серодиагностики данной инфекции.

Изучена чувствительность лабораторных животных к вирусу ЛХМ и показана высокая восприимчивость к нему новорожденных и взрослых мышей, морских свинок, сирийских хомяков (Тюшнякова с соавт., 1960; Подоплекина, Рассадкин, 1971, 1974; Подоплекина, Унгер, 1975).

Проведены исследования по изучению чувствительности различных линий культур клеток к вирусу ЛХМ (Подоплекина с соавт., 1974). Испытано 5 первичных (КЭЧ, КЭМ, КЭК, КЭХ, ПЭЧ) и 8 перевиваемых линий (Vero, FL, СПЭВ, L, He-La, HEp-2, МИО, ПАО) и выявлено, что вирус размножается во всех перечисленных линиях без цитопатического эффекта. Выбраны наиболее чувствительные линии клеток для изучения биологических свойств вируса.

В опытах на животных установлено, что вирус ЛХМ обладает аллергенными свойствами (Подоплекина, 1974). Проводится изучение алергизирующей способности фракций вируса в опытах *in vivo* и *in vitro* (в реакциях гиперчувствительности замедленного и немедленного типа).

Изучена антигенная взаимосвязь вирусов ЛХМ, Такарибе и Амапари в реакциях: связывания компонента (РСК), диффузионной преципитации в агаровом геле (РДПА) и биологической нейтрализации (РБН). В РСК и РДПА выявлена тесная взаимосвязь между штаммами ЛХМ, а также между вирусами Такарибе и Амапари и отсутствие таковой между вирусами ЛХМ и комплексом Такарибе.

В РБН не обнаружено взаимосвязи между всеми изученными аренавирусами. Полученные данные могут быть учтены при создании новых диагностических препаратов.

Установлен феномен интерференции в клетках эмбриона человека и куриного эмбриона вирусов ЛХМ, Такарибе и Амапари против вирусов ЕСНО, WEE и VEE (аттенуированный вариант 2621). Представлены данные изучения природы этого феномена.

Проведены исследования по выявлению гемагглютинирующей активности вирусов ЛХМ и Такарибе. Обнаружена слабая агглютинация вирусом Такарибе эритроцитов барана при определенных значениях рН.

Изучена инфекция Такарибе в опытах на лабораторных животных (Унгер с соавт., 1973; Подоплекина, Унгер, 1975) и в культурах клеток (Подоплекина с соавт., 1974, 1975), что

позволило нам выбрать определенную модель для приготовления препаратов для диагностики данной инфекции.

КВС МЗ СССР утверждены диагностикумы вируса ЛХМ и вируса Такарибе для РСК, диагностические иммунные сыворотки к этим вирусам, иммунный ЛХМ мышинный асцит, референс-препарат диагностикума ЛХМ. Разработан и находится в стадии апробации диагностикум вируса Амапари. Сделаны методические подходы к созданию препаратов для РДПА и РНГА.

Созданные препараты применяются при диагностике нейронинфекционных заболеваний. При обследовании 59 больных с диагнозом серозный менингит, менингоэнцефалит, арахноидит у 32 человек (54,2%) обнаружено диагностическое нарастание титра антител к аренавирусам. В 3 случаях из спинномозговой жидкости удалось изолировать вирусы, которые, по нашим предварительным данным, можно отнести к группе аренавирусов (Подоплека с соавт., 1974, 1975).

Исследования по разработке аренавирусных диагностических препаратов продолжаются.

ХАРАКТЕРИСТИКА РЯДА ЭКОНОМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРОИЗВОДСТВА ОСПЕННЫХ ВАКЦИН

Г. И. ХЛЯБИЧ, Г. М. СТЕПАНОВ, А. А. СУМАРОКОВ,
Л. Н. ЗАПОРОЖЦЕВ

Министерство здравоохранения СССР, Московский институт вирусных препаратов, Государственный институт стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Тарасевича, Московский институт вакцины и сывороток им. Мечникова

Огромные успехи, достигнутые в нашей стране по борьбе с инфекционными болезнями, неразрывно связаны с творческими достижениями в области реализации многочисленных программ по созданию, применению и последовательному совершенствованию эффективности медицинских биологических препаратов.

Научно-технический прогресс в разработке и практике применения вакцино-сывороточных препаратов обуславливает необходимость их постоянного совершенствования, причем не только в плане повышения параметров, ответственных за

их качество, но и повышения эффективности и рентабельности производства.

Проект ЦК КПСС к XXV съезду партии об основных направлениях развития народного хозяйства СССР в 1976—1980 гг. указывает, что X пятилетка в первую очередь должна стать пятилеткой повышения качества продукции и эффективности производства.

Именно в этих двух направлениях представляется наиболее важным рассмотрение научных и производственных аспектов создания и совершенствования медико-биологических препаратов.

Естественно, что при обсуждении проблемы производства биологических препаратов, конечным этапом которого является высокоактивный, не безразличный для здоровья продукт биологического синтеза, вводимый человеку, главным является обеспечение увеличения специфической эффективности и уменьшение побочного (повреждающего) действия — это, безусловно, наиболее значимый аспект в рамках повышения его качества.

Как известно, основные параметры качества вакцинных препаратов определяются показателями их иммуногенности и побочного отрицательного действия. От взаимоотношения этих параметров во многом зависит тактика их применения. Именно поэтому повышение качества вакцинного препарата — это прежде всего изыскание путей повышения его иммуногенности и снижения побочного действия.

Проблема стандартизации вакцинного препарата неразрывно связана со стандартизацией технологических процессов его производства. Однако последнее в условиях производства оспенных вакцин в Советском Союзе затрудняется использованием для приготовления препарата разных вирусных штаммов. Так, основой производимых оспенных вакцин являются вирус Л-ИВП (получен на основе листеровского штамма), вирус ЭМ-63 (получен на основе штамма Эквадор) и вирус Белорусского ИЭМ. Каждый из них пассируют по особым схемам, и каждый из них обладает не только собственной биологической характеристикой, но и связанными с нею отличиями производства вакцинного препарата по чисто экономическим параметрам.

Важно подчеркнуть, что препарат, производимый на всех предприятиях, кроме Московского НИИ вирусных препаратов, является практически нерентабельным. Причиной этого

частично являются различная оснащенность производства институтов-изготовителей, неравномерное распределение производственных площадей, неодинаковый уровень производительности труда и т. п. Однако этим не исчерпываются причины резких различий в себестоимости вакцины, производимой предприятиями союзного и республиканского подчинения.

Анализ производственной и научной деятельности производственных лабораторий показал, что до настоящего времени уделяется мало внимания технико-экономическим резервам, которые должны базироваться на биологических особенностях штаммов.

Т а б л и ц а

Технико-экономические показатели производства оспенной вакцины на разных предприятиях страны

Наименование показателей	Институты-изготовители и вирусные штаммы				
	Л-ИВГ Москов- ский НИИВГ	ЭМ-63		Б-51	
		Томский НИИВС	Таш- НИИВС	Белорус- ский ИЭМ	Одесский ИВЭ
Выход соскоба, г/кг веса телят	3,69	4,0	2,8	2,5	3,1
Разведение соскоба в вакцине	1:8	1:6	1:8	1:8	1:8
Средний титр вируса в соскобе	$5,3 \cdot 10^9$	$1,7 \cdot 10^9$	$2,35 \cdot 10^9$	$1 \cdot 10^{10}$	$2,1 \cdot 10^9$
Фактическая себестои- мость соскоба, руб.	627,39	738,96	895,15	1538	1320
Себестоимость единицы продукции за период с 1968 по 1975 г. при оптовой цене в 8 руб., руб.	5,1—6,07	7,3—12,29	7,44— 11,04	13,56— 15,35	8—53 —15,35
Объем производства в 1975 г., млн: доз	37	16,1	13,7	3,6*)	11,7

*1974 г.

Имеется, по нашему мнению, еще один резерв для более экономного расходования сырья. Однако его возможности и приемлемость до настоящего времени, как в случае с оспенной вакциной, так и с некоторыми другими, еще не изучены. В частности, если нижний предел активности препарата строго определен международными или национальными лимитами, то верхний предел до последнего времени почти не подле-

жал обсуждению. При этом обычно руководствуются положением, согласно которому препарату с максимальной высокой активностью должно быть отдано предпочтение перед менее активным. Между тем результаты исследования, проведенные в Московском НИИ вирусных препаратов с оспенной вакциной, указывают на необходимость отработки оптимальных доз вакцины для каждого штамма, иными словами — пределов активности препарата.

Для выяснения причин несоответствия в технико-экономических показателях производства вакцины в разных лабораториях мы сделали попытку проанализировать некоторые особенности используемых штаммов вируса осповакцины. С этой целью был изучен ряд производственно-экономических показателей предприятий, выпускающих оспенную вакцину.

Представленные в таблице материалы показывают, что штаммы по средним данным резко отличаются друг от друга. Особенно велики отличия в репродуктивности вируса на коже животных-продуцентов. Наибольшей репродуктивностью обладал вирус минской линии штамма Б-51, наименьшей — томская линия штамма ЭМ-63 и одесская линия штамма Б-51.

Ранее проведенные С. С. Маренниковой и др. исследования показали, что так называемая породная чувствительность животных-продуцентов не играет столь важной роли, какая предполагалась прежде. Следовательно, причины слабой репродуктивности штаммов могут заключаться в особенностях или технологии приготовления посевных вирусов, или в способах пассирования. Так, в частности, по данным Московского НИИ вирусных препаратов и Ташкентского НИИВСа, завышенная доза посевного вируса может способствовать снижению репродукции вируса. Кроме того, по данным Московского НИИ вирусных препаратов, продукция оспенной пульпы и репродукция вируса при пассажах могут изменяться циклически, что требует выявления генерации вируса, оптимальной по этим двум показателям.

Обращает на себя внимание соотношение репродукции вируса и выхода оспенного соскоба с кожи телят: чем больше один показатель, тем меньше другой. Это выявляется как при сравнении разных линий одного штамма, так и при сравнении отдельных штаммов, резко различающихся по параметру репродуктивности вируса. Такие же соотношения получены в Московском НИИ вирусных препаратов и в опытах с одним штаммом.

Это свидетельствует о том, что суммарная продукция вируса в ряде случаев может оставаться одинаковой для всех штаммов, так как снижение репродукции вируса компенсируется большим выходом оспенной пульпы.

Следует также отметить и другое обстоятельство, видимо, играющее определенную роль в экономических показателях производства оспенной вакцины. Оно заключается в различных потерях вируса в процессе приготовления вакцины. Это может объясняться как различиями в технологии приготовления препарата, так и с неменьшим основанием с неодинаковой стабильностью вируса. Между тем первая причина относится к регулируемым факторам и требует совершенствования технологических процессов. В свою очередь, вторую до настоящего времени считали либо случайным явлением или относили к свойствам, постоянно присущим каждому отдельно взятому штамму. Однако приведенные в Московском НИИ вирусных препаратов исследования дают возможность предполагать, что этот признак штамма (Л-ИВП) может закономерно изменяться при пассажах, а следовательно, активно управляться. Если побочные изменения будут закономерными и для других штаммов, то они могут быть использованы не только в повышении качества препарата, но и экономичности его производства. Видимо, можно будет повысить разведение оспенной пульпы в вакцине и особенно тогда, когда будут установлены оптимальные нижние и верхние пределы (лимиты) активности вакцины.

В заключение необходимо подчеркнуть, что настоящие материалы не претендуют на полноту охвата проблемы путей повышения качества экономических показателей производства оспенной вакцины. Наряду с этим думается, что приведенные примеры могут быть использованы при совершенствовании производства вакцинных препаратов вообще.

ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ БЫСТРОЙ И УСКОРЕННОЙ ДИАГНОСТИКИ ОСПЫ И НЕКОТОРЫХ ДРУГИХ ВЕЗИКУЛЯРНЫХ ИНФЕКЦИЙ, ПУТИ ИХ УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ

С. С. МАРЕННИКОВА, Н. Н. МАЛЬЦЕВА, В. Г. ПИКУЛИНА,
Н. А. ХАБАХПШЕВА

Научно-исследовательский институт вирусных препаратов, Москва

Несмотря на быстрое сокращение ареала распространения оспы в мире и возможное прекращение в недалеком будущем трансмиссии этой инфекции среди людей, совершенствование методов лабораторного диагноза оспы в силу ряда причин не теряет своей актуальности. За последние годы были разработаны и внедряются в практику ряд методов быстрой и ускоренной диагностики оспы. К их числу следует отнести метод электронной микроскопии, реакцию непрямой гемагглютинации (РНГА) и метод флюоресцирующих антител (МФА) для выявления специфического антигена (как в материалах от больных — так и в инфицированных клеточных культурах). Все эти методы (кроме МФА в культуре клеток) позволяют получить ответ уже через 1,5—2,0 часа после начала исследования. Вместе с тем проведенные исследования и опыт практического их применения позволили выявить известные недостатки и ограничения, присущие каждому из них. Так, например, при использовании РНГА отмечено появление неспецифических реакций при работе с длительно хранившимися и сильно загрязненными материалами. МФА для выявления антигена непосредственно в материалах от больных лимитируется стадией болезни (период до появления пустул). Помимо этого все методы быстрой диагностики не позволяют осуществить дифференциацию между различными представителями группы поксвирусов. Указанное обстоятельство приобретает особое значение в связи с тем, что в последнее время была установлена патогенность для человека ранее малоизвестных поксвирусов (вируса оспы обезьян, оспы слонов).

В свете изложенного представляется очевидным, что дальнейшая работа по совершенствованию методов экспресс-диаг-

ности оспы должна быть направлена на повышение специфичности используемых реакций и разработку методов, позволяющих осуществить внутригрупповую дифференциацию поксвирусов. Для решения этой задачи в настоящее время нами проводятся поисковые исследования, в ходе которых, в частности, разработана двухступенчатая реакция гелевой преципитации, позволяющая отчасти решить проблему внутригрупповой дифференциации ортопоксвирусов (Мальцева, Мареникова). Точно так же перспективными являются работы по созданию более совершенных реагентов для МФА и РНГА, что должно повысить специфичность этих реакций и расширить пределы их применимости.

Благодаря предложенной методике оценки бляшек, формирующихся в инфицированной клеточной культуре СПЭВ, по особенностям свечения (МФА, прямая модификация, 24 часа после заражения), стало возможным одновременно с выявлением поксантигена осуществлять дифференциацию ряда поксвирусов (например, натуральной оспы, вакцины, оспы обезьян и др.). Вторым важным направлением работ в рассматриваемой области является усовершенствование методов лабораторной диагностики инфекций, дающих сходную с оспой клиническую картину. Среди последних наибольшее значение имеет ветряная оспа, заболевание, чаще всего симулирующее оспу. До последнего времени лабораторная диагностика этой инфекции была крайне трудной и ненадежной. Необходимость решения этой задачи недавно была подчеркнута приказом Министерства здравоохранения СССР.

В результате проведенных исследований был впервые создан диагностикум для выявления антигена ветряной оспы — герпеса зостер в РНГА; была разработана также методика его использования для ретроспективной диагностики этих заболеваний на основе количественного определения противоветряночных антител в РТНГА.

Для диагностики другой везикулярной инфекции — герпеса простого, также иногда принимаемого за оспу, были разработаны эритроцитарные препараты для РНГА.

Применительно к целям лабораторной диагностики ветряной оспы—герпеса зостер и герпеса простого — был с успехом апробирован метод электронной микроскопии. В результате использования этого метода, а также РНГА с созданными препаратами лабораторный диагноз ветряной оспы может быть установлен в пределах 2 часов после взятия материала.

Дальнейшей задачей является более широкая апробация упомянутых методов и препаратов для их последующей рекомендации в практику. Что касается препаратов для быстрой диагностики оспы, то необходимой предпосылкой для их внедрения в практику здравоохранения является быстреее освоение их производства и налаживание выпуска.

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ОСПЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ В ТОМСКОМ ИНСТИТУТЕ ВАКЦИН И СЫВОРОТОК

В. Г. ПЕХЕНЬКО, А. П. СТЕПАНОВА

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцин и сывороток

С момента открытия в Томске бактериологического института приступили к производству оспенной вакцины. Объем ее составлял около 82 тыс. доз в год, а выход соскоба получали от 1,5 до 98 г. Проводившиеся в различных направлениях исследования Бутягина, Веселовой, Сусловой. Хомулло (1912—1950) позволили не только добиться увеличения соскоба и уменьшения микробного загрязнения вакцины, но и разработать метод сохранения соскоба в течение 10 месяцев путем его замораживания.

С 1955 г. на базе оспенного отделения организуется отдел сушки вакцины и с 1956 г. в основном выпускается сухой препарат со сроком годности до 1,5 лет. Сотрудники отдела приложили немало усилий по освоению и внедрению новых методов контроля вакцины, а также улучшению качества выпускаемого препарата. Усовершенствован метод размора соскоба, что позволило заметно повысить технико-экономические показатели. С улучшением производственных условий, совершенствованием методов контроля улучшилось качество препарата. Выпускаемая оспенная вакцина отвечала требованиям ВОЗ и экспортировалась за границу.

С 1967 г. в институте выпускается вакцина из малореактивного штамма ЭМ-63, полученного из Московского НИИВИ с активностью на ХАО КЭ $5 \cdot 10^7$ БОЕ/мл.

Успешное пассирование его на коже телят позволило повысить специфическую активность вируса на ХАО до $3,3 \cdot 10^9$

БОЕ/мл. Средний выход соскоба с кожи телят составлял 3,7—4,0 г на кг веса животного. Основным направлением работы отдела явилось изучение специфических свойств штамма ЭМ-63 при пассировании по схеме теленок — теленок. Изучение последующих поколений штамма (4, 5, 6, 7, 8) показало, что его активность на ХАО КЭ была от $1,4 \times 10^9$ до $3,6 \times 10^9$ БОЕ/мл. Приготовленные производственные серии препарата из этих соскобов имели хорошую активность и высокую прививаемость на первично вакцинированных детях (90—100%). Все выпущенные серии были термостабильны. Вакцина обладала высокими антигенными свойствами.

В условиях минусовой температуры (-24 — -26°) штамм длительно сохранял специфическую активность (через 3,5 года — $1,1 \times 10^9$; 4,5 — $2,5 \times 10^9$ и 5,5 лет — $1,1 \times 10^9$ БОЕ/мл). Исследования показали, что штамм ЭМ-63 можно пассировать по схеме теленок—теленок на уровне 4, 5, 6, 7 и 8 поколений и сохранять до 6 лет при консервировании его в 60%-ном глицерине.

Наряду с исследованиями по усовершенствованию оспенной вакцины в институте проводятся работы по получению противооспенного гамма-глобулина, ряда диагностических препаратов (антивакцинная кроличья сыворотка, антиген вируса осповакцины, люминисцирующая кроличья сыворотка и др.).

В настоящее время указанные препараты выпускаются в необходимых количествах и удовлетворяют потребность органов здравоохранения. Только за последние 5 лет защищено 3 кандидатские диссертации, посвященные вопросам усовершенствования технологии оспенных препаратов.

РАЗРАБОТКА ОСПЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ИЗ ШТАММА ЭМ-63

Г. А. КОРОЛЕНКО, И. И. ФЕДТОВА

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

В связи с рекомендацией Государственного контрольного института ТомНИИВС в 1967 г. перешел на выпуск оспенной

вакцины из однородного белого клона ЭМ-63. Научные исследования, проведенные в лаборатории вакцин (Мастеница, Короленко, Мурина, 1968—1970), оспенном отделении (Федотова, Степанова, 1968—1970) совместно с центром по профилактике оспы МосНИИВСа (Маренишкова, Мальцева, Чемишкян, 1968—1970) имели целью изучить антигенность и иммуногенность штамма, стабильность штамм-лимфы при длительном хранении в холодильной камере, возможность использования при заражении телят лиофилизированного посевного материала, термоустойчивость оспенной вакцины и другие вопросы, связанные с разработкой технологических моментов при изготовлении препарата.

Выяснено, что схема ведения штамма на телятах с дополнительным включением в нее кролика позволила повысить специфическую активность посевного материала (Федотова с соавт., 1971). Ламинавакцина из полученного соскоба хорошо прививалась на людях. По реактогенности соответствовала требованиям, предъявляемым к препарату (Мурина с соавт., 1972). Полученный сухой материал (соскоб, высушенный с пентоном Дифко) сохранял специфическую активность при условии хранения его при температуре -27° в течение 31 месяца и при $+4^{\circ}$ — 24 месяца. Посевной материал, высушенный с пентонами Семиналатинского мясокомбината, сохранял специфическую активность в течение 12 месяцев, температура хранения $+4^{\circ}$. Среда наполнения ампул (азот, воздух) или отсутствие таковой (вакуум) — не имели значения для сохранения активности (Короленко с соавт., 1972).

Отрабатывалось получение качественного оспенного препарата из штамма ЭМ-63. Изучено влияние высушивания оспенной вакцины на разных аппаратах на специфическую активность, стабильность и термоустойчивость (Мастеница с соавт., 1971) и показано (Киселева, 1971—1973), что специфическая активность оспенной вакцины в течение срока годности более стабильна, чем терморезистентность, и что специфическая активность нетермостабильной по тесту 100° — 1 час вакцины при хранении ($4-10^{\circ}$) на протяжении срока годности снижается в два раза интенсивнее.

Проведены исследования по разработке метода повторного экстрагирования вируса из осадка после очистки оспенной вакцины фреоном-113 (Федотова, 1969—1970; Степанова, 1974), и метод внедрен в производство, что позволило увели-

чить количество и улучшить качество оспенной вакцины и повысить ее технико-экономические показатели.

Одновременно с разработкой методов, повышающих качество оспенной вакцины, проводились исследования по получению диагностической противооспенной сыворотки (Федотова с соавт., 1971, 1972; Степанова, 1971—1974) и противооспенного гетерогенного гамма-глобулина (Мастеница с соавт., 1968—1971). Разработаны и предложены схемы иммунизации животных по получению высокоактивной специфической сыворотки и метод получения гетерогенного гамма-глобулина (Мастеница с соавт., 1971).

В 1971—1974 гг. изучались оптимальные условия приготовления эмбрионального диагностикума вируса осповакцины (Пехенько), направленные на улучшение существующего препарата. В итоге были отработаны доза, метод заражения, способ приготовления препарата и методы его стабилизации и изменен ранее существующий регламент его изготовления.

Изучалась возможность химического воздействия на вирус вакцины штаммов ЭМ-63 и Л-ИВП с целью получения варианта с повышенными термоустойчивыми качествами. В результате проведенных исследований выделены варианты с хорошими термоустойчивыми свойствами, но с низкими иммуногенными качествами (Короленко с соавт., 1972, 1973).

Изучение изолированных клонов вируса генетически однородного штамма ЭМ-63 на культуре ткани под агаром позволило установить корреляцию в титровании вируса методом бляшек в культуре ткани ФЭК и на ХАО КЭ. Метод титрования на ФЭК под агаровым покрытием не уступал по чувствительности титрованию на куриных эмбрионах. Метод рекомендован для оценки инфекционной активности оспенной вакцины, а также при качественной характеристике производственного штамма (Короленко с соавт., 1974).

Полученные материалы обобщены в более чем 60 статьях и 4 кандидатских диссертациях.

ЗАВИСИМОСТЬ МЕЖДУ ДОЗОЙ ЗАРАЖЕНИЯ ТЕЛЯТ И УРОЖАЙНОСТЬЮ ВИРУСА ОСПОВАКЦИНЫ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ШТАММА ЭМ-63 РАЗЛИЧНЫХ ГЕНЕРАЦИЙ

П. А. ТИКОВ

Ташкентский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток

Регламентированное МРТУ-42 ограничение ведения штамма осповакцины ЭМ-63 четырьмя поколениями лишило его производственной перспективы. Исследованиями, проведенными в ТашНИИВС в последние годы, показана возможность использования штамма ЭМ-63 в качестве маточного посевного материала и последующих поколений.

Метод заражения телят (использование 25—50 г маточного посевного материала на одного теленка) не дает конкретного определения дозы заражения. Между тем внедрение в производство оспенной вакцины методом количественного определения активности сырых соскобов (на ХАО куриных эмбрионов) позволяет по-новому подойти к вопросу определения дозы заражения. Нами предложено определять дозу заражения в ООЕ на 1 кг живого веса теленка по формуле:

$$D = \frac{A \times K}{B}$$

где D — доза заражения на 1 кг живого веса;

A — активность маточного посевного материала, ООЕ/мл;

K — количество маточного посевного материала, г, взятого на заражение;

B — вес теленка, кг.

По указанной формуле была определена доза заражения более чем 200 телят, на заражение каждого из которых было израсходовано 50 г сырого соскоба IV поколения различной активности.

Далее определялась урожайность вируса, полученного после заражения по формуле:

$$y = \frac{A_1 \times K_1}{B}$$

где y — получено вируса на 1 кг живого веса теленка;

A₁ — активность сырого соскоба, ООЕ/мл;

K₁ — количество сырого соскоба, г;

B — вес теленка, кг.

Анализ материалов показал, что урожайность вируса зависела не от активности штамма, а от количества вируса, содержащегося в 50 г сырого соскоба, взятого на заражение теленка.

Оптимальная доза заражения находилась в пределах 8,73 — 9,28 ООЕ на 1 кг живого веса теленка.

Для получения маточного посевного материала последующих поколений (от V до XI) был использован метод непрерывных пассажей с теленка на теленка с учетом оптимальных доз заражения на 1 кг живого веса животного. Всего было заражено 26 телят маточным посевным материалом с V по XI поколения: 5 телят посевным материалом V поколения.

5	»	»	»	VI	»
4	»	»	»	VII	»
5	»	»	»	VIII	»
1 теленок	»	»	»	IX	»
3 теленка	»	»	»	X	»
3	»	»	»	XI	»

Полученные результаты наблюдения и анализа показали высокую степень обратной коррелятивной связи между дозой заражения телят и урожайностью вируса осповакцины (количество вируса, полученного после заражения). При непрерывных пассажах штамма ЭМ-63 с теленка на теленка значение имеет не поколение штамма и его активность, а избранная доза заражения теленка. Используя этот метод определения дозы заражения телят, нам удалось косвенно определить и качество используемых телят. Так, при дозе заражения 9,0 ООЕ на 1 кг живого веса животного маточным посевным материалом V, VI, X и XI поколений было получено увеличение выхода в 25, 50, 25 и 32 раза (соответственно) на 1 кг живого веса теленка.

Статистическая обработка материалов по критерию Вилкоксона—Мана-Уйтки показала, что оптимальной дозой заражения телят при непрерывных пассажах с теленка на теленка является 8,6—9,0 ООЕ на 1 кг живого веса (p < 0,001).

Таким образом, предложенный метод заражения телят маточным посевным материалом любой поколения дает нам

возможность рационально и экономно расходовать посевной материал и стандартизировать этот этап производства оспенной вакцины.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПЕРОРАЛЬНОЙ ИММУНИЗАЦИИ ЖИВОЙ АССОЦИИРОВАННОЙ ОСПЕННО-ЧУМНОЙ БИВАКЦИНОЙ

Т. В. ДОРОХИНА, А. А. ВОРОБЬЕВ, Г. Т. ПАТРИКЕЕВ,
Е. М. ЗЕМСКОВ

Иногда высказывается соображение о том, что иммунопрофилактика инфекционных болезней начинает себя исчерпывать, так как количество вакцин, предложенных исследователями, во много раз превышает возможности их применения. Поэтому наиболее перспективным направлением в иммунопрофилактике инфекционных болезней, на наш взгляд, является создание ассоциированных и комплексных вакцин.

Вопрос о возможности одновременной пероральной иммунизации живой ассоциированной оспенно-чумной бивакциной практически ранее никем не изучался.

Создание живой ассоциированной оспенно-чумной бивакцины имело бы практическое применение в некоторых районах СССР, где, по эпидемиологическим показаниям, население вакцинируется как оспенной, так и чумной вакцинами.

Пероральный метод введения ассоциированной бивакцины мы выбрали как один из наиболее быстрых и массовых методов иммунизации. Этот метод дает положительный психологический эффект во время вакцинации различных контингентов людей. Также уменьшается степень алергизации организма.

В состав исследуемой ассоциированной оспенно-чумной бивакцины входят два вакцинных штамма: штамм осповакцины БИЭМГ (Б-51), адаптированный к развитию на хорионаллантоисной (ХАО) оболочке куриного эмбриона (РКЭ) и штамм ЕВ линии НИИЭГ чумной вакцины.

Эксперименты проводили на морских свинках и кроликах. На этих видах животных были подобраны оптимальные прививочные дозы компонентов бивакцины: осповакцины — $1 \cdot 10^6$ — $1 \cdot 10^7$ оспеннообразующих единиц; чумной вакцины — $(20—100) \cdot 10^9$ живых микробных клеток. Осповакцину применяли в виде 10%-ной суспензии ХАО РКЭ. Чумную вакцину применяли в виде смыва двухсуточной агаровой культуры. Ассоциированная бивакцина в соответствующих дозировках при проверке на животных оказалась безвредной и ареактогенной.

Динамика приживления и распределения вакцинных штаммов в органах животных протекает без угнетения и интерференции. Процесс антителообразования идет на том же уровне без существенно достоверной разницы, что и при соответствующих моновакцинациях.

В опытах на добровольцах было показано, что при одновременной вакцинации двумя таблетированными вакцинами оспенной и чумной, она была безвредной; ареактогенной; титры антител имели те же величины, что и при соответствующих моновакцинациях.

Эксперименты на животных и группе добровольцев показали принципиальную возможность создания живой ассоциированной оспенно-чумной бивакцины в таблетированной форме для орального применения.

ПРИМЕНЕНИЕ ВИРУСА ОСПЫ ОБЕЗЬЯН ДЛЯ ОЦЕНКИ НАПРЯЖЕННОСТИ ИММУНИТЕТА ПРОТИВ НАТУРАЛЬНОЙ ОСПЫ В ОПЫТАХ НА МАКАКА РЕЗУС

А. И. ПОЛОЗОВ, В. И. СОБОЛЕВСКИЙ, А. А. ВОРОБЬЕВ,
Г. Т. ПАТРИКЕЕВ, Л. И. ЗЕЛЕНСКИЙ

Натуральная оспа является антропонозом, передающимся преимущественно воздушно-капельным путем. В ряде случаев, особенно при разработке новых методов вакцинации против натуральной оспы, целесообразно проведение заключительных экспериментов на обезьянах, которые относятся, как и человек, к приматам и наиболее близки к нему по анатомо-физио-

логическим особенностям, при аэрогенной аппликации вируса оспы обезьян.

С целью проверки напряженности иммунитета против натуральной оспы у иммунизированных обезьян макака резус применяли аэрогенное заражение вирусом оспы обезьян (штамм Конго-8), который вызывает у них лихорадочное заболевание с высыпанием. Известно, что вирус оспы обезьян является антигенно сходным с вирусами вакцины и натуральной оспы. Поэтому вакцинация обезьян вирусом вакцины вызывает напряженный иммунитет как к возбудителю натуральной оспы, так и оспы обезьян. По нашим наблюдениям, аэрогенное инфицирование макака резус вирусом оспы обезьян (штамм Конго-8) в дозах $1 \cdot 10^4$ ООЕ и более регулярно сопровождается лихорадочным заболеванием с развитием специфического высыпания и выделением возбудителя в полость рта и носоглотки у всех животных.

Установлено, что обезьяны макака резус, иммунизированные вирусом вакцины, обладают достаточно высокой степенью защиты против аэрогенного заражения возбудителем оспы обезьян в дозах $5,9 \cdot 10^4$ — $3,5 \cdot 10^5$ ООЕ.

При использованных дозах возбудителя не удалось преодолеть поствакцинальную невосприимчивость ни у одной из 31 обезьяны, иммунизированной внутрикожно или перорально, через 30—35 суток после прививки. Только у 2 из 14 обезьян с низкими титрами нейтрализующих антител (1:5 и 1:25) иммунитет был частично преодолен через 35 суток после пероральной ревакцинации. Заболевание у последних в отличие от контрольных обезьян протекало легко по типу оспы без сыпи.

Применение вируса оспы обезьян для оценки напряженности иммунитета у обезьян макака резус против натуральной оспы можно рекомендовать при внедрении в производство новых штаммов вируса вакцины и различных методов иммунизации.

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА ПРОНИКНОВЕНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ И ИХ АНТИГЕНОВ ЧЕРЕЗ АНАТОМО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ БАРЬЕРЫ ОРГАНИЗМА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ В СВЕТЕ НЕКОТОРЫХ МАССОВЫХ СПОСОБОВ ИММУНИЗАЦИИ

В. И. ОСИПОВ, А. А. ВОРОБЬЕВ, Е. М. ЗЕМСКОВ, Г. Т. ПАТРИКЕЕВ

Посредством гистологических, бактериологических, иммунофлюоресцентных и электронно-микроскопических методов изучалось проникновение вакцинного штамма ЕВ и вируса осповакцины через слизистую оболочку ротовой полости и тонкого кишечника животных. Кроме того, с помощью электронной микроскопии изучались начальные этапы взаимодействия вакцины с альвеолярными макрофагами при интратрахеальном введении препаратов.

В ближайшие минуты и часы после иммунизации вакцинный штам ЕВ и вирус осповакцины обнаруживали на поверхности эпителия слизистой оболочки, в дальнейшем микроорганизмы проникали в собственно слизистый слой, причем для ротовой полости предпочтительным способом проникновения был межклеточный, в то время как для тонкого кишечника основной путь пенетрации осуществлялся через клетки призматического эпителия.

Проникновение эпителиального барьера микроорганизмами вакцинных штаммов в тонком кишечнике происходило более интенсивно по сравнению с ротовой полостью, причем вирус осповакцины проникал быстрее (через 15 минут) вакцинного штамма ЕВ (через 1—4 часа). Проникшие в собственно слизистый слой микроорганизмы по лимфатическим путям попадали в регионарные лимфатические узлы, фагоцитировались макрофагами, накапливались в них и подвергались частичному перевариванию с последующей дегенерацией макрофагальных клеток.

При изучении начальной фазы взаимодействия альвеолярных макрофагов с микроорганизмами вакцинного штамма ЕВ и вируса осповакцины при интратрахеальной иммунизации морских свинок установлено, что в ближайшие 5—15 минут микроорганизмы адсорбировались на поверхности макрофа-

логическим особенностям, при аэрогенной аппликации вируса оспы обезьян.

С целью проверки напряженности иммунитета против натуральной оспы у иммунизированных обезьян макака резус применяли аэрогенное заражение вирусом оспы обезьян (штамм Конго-8), который вызывает у них лихорадочное заболевание с высыпанием. Известно, что вирус оспы обезьян является антигенно сходным с вирусами вакцины и натуральной оспы. Поэтому вакцинация обезьян вирусом вакцины вызывает напряженный иммунитет как к возбудителю натуральной оспы, так и оспы обезьян. По нашим наблюдениям, аэрогенное инфицирование макака резус вирусом оспы обезьян (штамм Конго-8) в дозах $1 \cdot 10^4$ ООЕ и более регулярно сопровождается лихорадочным заболеванием с развитием специфического высыпания и выделением возбудителя в полость рта и носоглотки у всех животных.

Установлено, что обезьяны макака резус, иммунизированные вирусом вакцины, обладают достаточно высокой степенью защиты против аэрогенного заражения возбудителем оспы обезьян в дозах $5,9 \cdot 10^4$ — $3,5 \cdot 10^5$ ООЕ.

При использованных дозах возбудителя не удалось преодолеть поствакцинальную невосприимчивость ни у одной из 31 обезьяны, иммунизированной внутрикожно или перорально, через 30—35 суток после прививки. Только у 2 из 14 обезьян с низкими титрами нейтрализующих антител (1:5 и 1:25) иммунитет был частично преодолен через 35 суток после пероральной ревакцинации. Заболевание у последних в отличие от контрольных обезьян протекало легко по типу оспы без сыпи.

Применение вируса оспы обезьян для оценки напряженности иммунитета у обезьян макака резус против натуральной оспы можно рекомендовать при внедрении в производство новых штаммов вируса вакцины и различных методов иммунизации.

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА ПРОНИКНОВЕНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ И ИХ АНТИГЕНОВ ЧЕРЕЗ АНАТОМО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ БАРЬЕРЫ ОРГАНИЗМА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ В СВЕТЕ НЕКОТОРЫХ МАССОВЫХ СПОСОБОВ ИММУНИЗАЦИИ

В. И. ОСИПОВ, А. А. ВОРОБЬЕВ, Е. М. ЗЕМСКОВ, Г. Т. ПАТРИКЕЕВ

Посредством гистологических, бактериологических, иммунофлюоресцентных и электронно-микроскопических методов изучалось проникновение вакцинного штамма ЕВ и вируса осповакцины через слизистую оболочку ротовой полости и тонкого кишечника животных. Кроме того, с помощью электронной микроскопии изучались начальные этапы взаимодействия вакцин с альвеолярными макрофагами при интратрахеальном введении препаратов.

В ближайшие минуты и часы после иммунизации вакцинный штам ЕВ и вирус осповакцины обнаруживали на поверхности эпителия слизистой оболочки, в дальнейшем микроорганизмы проникали в собственно слизистый слой, причем для ротовой полости предпочтительным способом проникновения был межклеточный, в то время как для тонкого кишечника основной путь пенетрации осуществлялся через клетки призматического эпителия.

Проникновение эпителиального барьера микроорганизмами вакцинных штаммов в тонком кишечнике происходило более интенсивно по сравнению с ротовой полостью, причем вирус осповакцины проникал быстрее (через 15 минут) вакцинного штамма ЕВ (через 1—4 часа). Проникшие в собственно слизистый слой микроорганизмы по лимфатическим путям попадали в регионарные лимфатические узлы, фагоцитировались макрофагами, накапливались в них и подвергались частичному перевариванию с последующей дегенерацией макрофагальных клеток.

При изучении начальной фазы взаимодействия альвеолярных макрофагов с микроорганизмами вакцинного штамма ЕВ и вируса осповакцины при интратрахеальной иммунизации морских свинок установлено, что в ближайшие 5—15 минут микроорганизмы адсорбировались на поверхности макрофа-

гов, проникали внутрь клеток путем инвагинации клеточной мембраны с последующим образованием эндоцитозных пузырьков, после чего вирус осповакцины исчезал и появлялся лишь через 12—18 часов, что документировало его приживление в альвеолярных макрофагах. Основная масса микроорганизмов штамма ЕВ подвергалась перевариванию макрофагами в течение 1,5 часа.

ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ НАБЛЮДЕНИЯ ЗА ВАКЦИНАМИ, ПРИГОТОВЛЕННЫМИ С ЗАРАНЕЕ ЗАДАННОЙ (РАСЧЕТНОЙ) АКТИВНОСТЬЮ

Л. Г. НЕВСКАЯ, П. А. ТИКОВ, М. В. РОНИНА

Ташкентский научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

Регламентированный МРТУ-42 способ приготовления осповакцины предусматривает после получения вирусосодержащей жидкости и определения ее активности готовить такие разведения, при которых минимально допустимая активность превышала бы показатели сухих вакцин не менее чем на 1 lg, т. е. она должна иметь титр не менее 1×10^9 ООЕ/мл (к выпуску подлежат сухие вакцины с активностью 1×10^8 ООЕ/мл). Наблюдения и анализ материалов, полученных в прошлые годы (1970), показал, что чем выше титр жидкой вакцины перед высушиванием препарата, тем больше его потеря в процессе высушивания. Избыток живого вируса в жидкой вакцине, кроме потерь в процессе лиофилизации, приводит к повышению реактогенности сухого препарата, особенно при первичной вакцинации детей. В связи с этим представлялась необходимой разработка метода стандартизации этапа приготовления жидкой вакцины, и с учетом неизбежных потерь при лиофильном высушивании этот метод давал возможность получать препарат с активностью, удовлетворяющей требованиям МРТУ-42 на оспенную вакцину. Для этой цели из вирусосодержащей жидкости, полученной от одного соскоба с теленка, было приготовлено по 5000 доз вакцины с различной расчетной активностью (5×10^8 , 6×10^8 , 7×10^8 , 8×10^8 , 9×10^8 и 1×10^9 ООЕ/мл). Таким образом, от каждого соскоба с теленка было получено

6 экспериментальных серий осповакцины. Всего же 120 серий осповакцины от взятых 20 соскобов с телят.

Серии с активностью 1×10^9 ООЕ/мл удовлетворяли минимальным требованиям МРТУ-42 по активности. Остальные серии были приготовлены с расчетной активностью, ниже минимально допустимой МРТУ-42. После лиофильного высушивания 6 экспериментальных серий осповакцины, полученных от одного соскоба с теленка, определяли активность методом подсчета оспин на ХАО куриных эмбрионов. опыты ставили одномоментно в двух-, трехкратной повторности. В этом же опыте определялась также стабильность вируса по тесту кипячения в течение часа.

Полученные результаты показали, что все 120 серий по своей активности отвечали требованиям МРТУ-42 на оспенную вакцину и находились в пределах $8,23—8,48$ lg ООЕ/мл. Стабильность, определенная по тесту кипячения в течение 1 часа, отвечала рекомендациям ВОЗ (1970) и оспенного центра СССР. Падение активности после кипячения сухих вакцин было меньше 1, а именно $0,88$ lg ООЕ/мл.

Через 2 года хранения в бытовом холодильнике ($4—10^\circ$) все 120 экспериментальных серий были проверены на специфическую активность. Активность указанных серий осповакцины через 2 года колебалась в пределах $8,16—8,33$ lg ООЕ/мл и, следовательно, они могут быть использованы для вакцинации и ревакцинации людей.

На первично вакцинируемых детях были испытаны 14 серий осповакцины. Всего было привито 127 детей, из которых часть (68 детей) была привита осповакциной с наименьшей расчетной активностью (5×10^8 ООЕ/мл), а другая часть (59 детей) привита осповакциной с наибольшей расчетной активностью (1×10^9 ООЕ/мл). Персональная прививаемость выражалась в 100 и 99% соответственно, по надрезам—97 и 98,3%. Течение поствакцинального периода было более мягким у детей, привитых вакциной, приготовленной с расчетной активностью 5×10^8 ООЕ/мл, чем в группе детей, привитых осповакциной с расчетной активностью 1×10^9 ООЕ/мл.

Кожная реакция в группе детей, привитых вакциной, приготовленной с расчетной активностью 5×10^8 ООЕ/мл, была выражена слабее, чем во второй группе детей, размеры пустул и ареа были меньше. Нормальная температура (до 37°) наблюдалась в большем проценте случаев (79 против 59%), чем

в группе детей, привитых осповакциной, приготовленной с расчетной активностью 1×10^9 Ig OOE/мл.

Предложенный метод приготовления жидкой вакцины дает возможность экономно расходовать вируссодержащую жидкость, не снижая качества приготовленной из нее осповакцины. Экономия составляет от 10 до 50% в зависимости от избранной расчетной активности жидкой вакцины.

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ПРОГНОЗИРОВАНИЮ ПОТРЕБНОСТИ В ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТАХ

П. И. ЕМЕЛЬЯНОВ, В. Д. НЕУСТРОЕВ, Ю. С. ДЕРКАЧ, В. И. СТОВБА

Институт медицинской паразитологии и тропической медицины
им. Е. Н. Марциновского, Москва.

Совершенствование планирования развития и эффективная работа народного хозяйства и его отдельных отраслей невозможны без разработки различных прогнозов.

В свете задач противоэпидемической практики страны научно обоснованное определение методических подходов, а затем и прогнозирование потребностей в диагностических препаратах является одной из наиболее необходимых предпосылок создания научной базы разработки долгосрочных планов серийного производства и выбора наиболее перспективных направлений создания их новых образцов.

Несмотря на то, что работы по научному прогнозированию получили широкий размах и освещены в большом количестве литературных источников, методология прогнозирования потребностей еще не разработана в должной мере, тем более в области обеспечения учреждений здравоохранения диагностическими препаратами.

Разработка долгосрочного прогноза совокупных потребностей в диагностических препаратах представляет собой сложную комплексную задачу, требующую проведения специального научного исследования, основанного на современных методических подходах и обширной информации. Без исследования существующих и предстоящих методических и научных сдвигов, без учета вероятности появления качественно новых методов и диагностических приемов прогноз может

оказаться простой экстраполяцией существующих тенденций, что существенно снизит его качество.

Значительным осложнением поставленной задачи является также строго не определенная в настоящее время методика расчета текущей потребности в диагностических препаратах, изложение которой с вариантами расчетных таблиц авторы считают одним из исходных моментов своей работы.

Конкретными задачами методических подходов, по нашему мнению являются: 1. Выбор метода прогнозирования. 2. Выбор и обоснование классификации диагностических препаратов. 3. Отработка классификации исходных данных. 4. Определение классификации потребительских характеристик диагностических препаратов. 5. Определение способа обработки характеристик диагностических препаратов. 6. Группировка диагностических препаратов по потребителям и классификация самих потребителей. 7. Разработка метода и формул расчета потребности в отдельных диагностических препаратах. 8. Определение этапов работы по составлению конкретного прогноза и планирования производства.

Конкретные ответы на выше сформулированные задачи являются основным содержанием работы.

Кроме того, при разработке прогноза необходимо привлечение данных из других прогнозов, связанных с развитием смежных отраслей. Достоверность и полнота исходной информации, всесторонность анализа, обеспечение правильным выбором методов систематизации и классификации исходных данных, т. е. способом организации необходимой информации — важнейшие условия обоснованности прогноза.

ПРЕПАРАТЫ ИЗ АСЦИТИЧЕСКОЙ ЖИДКОСТИ КРЫС, ИММУНИЗИРОВАННЫХ НЕКОТОРЫМИ АРБОВИРУСАМИ

В. В. БЛИЗНЮК, И. Г. ПЕРЕСКОКОВА

Свердловский научно-исследовательский институт вирусных инфекций

Проблема арбовирусов приобретает в настоящее время все большее значение в связи с их важной ролью в инфекционной

патологии человека и домашних животных. Основной предпосылкой для успешного решения этой проблемы является достаточная вооруженность методами вирусологического и серологического исследования и наличие эффективных диагностических препаратов для быстрой и точной индикации и идентификации выделяемых вирусных агентов.

Основную часть иммунных сывороточных препаратов для названных целей получают из сыворотки крови кроликов, лошадей и некоторых других видов животных, гипериммунизированных соответствующими антигенами. Однако им присущ ряд недостатков (высокий уровень ингибиторов, трудоемкость получения, большая стоимость), заставивших исследователей обратиться к получению асцитических жидкостей мышшей (Гайдамович с соавт., 1967) и крыс (Зубова с соавт., 1968; Бочарова, Андреева, 1970).

Сыворотки крови и асцитические жидкости имеют идентичный белковый состав, антитела принадлежат к одному классу иммуноглобулинов, а их титр в сыворотке и асците практически одинаков (Гайдамович с соавт., 1969; Богоявленская с соавт., 1970). Немаловажно и то, что асциты мышшей содержат значительно меньшее количество ингибиторов, чем сыворотки кроликов (Обухова с соавт., 1971).

Получать иммунные асцитические жидкости на крысах экономически выгодно, так как эти продуценты неприхотливы, обладают врожденной устойчивостью к спонтанным инфекциям, требуют меньше затрат на содержание и дают значительное количество асцита.

Цель данной работы: отработка оптимальных условий получения иммунных асцитических жидкостей к вирусам Синдбис и западного энцефаломиелиита лошадей и изучение их свойств.

В качестве продуцентов асцитической жидкости были использованы белые беспородные крысы весом 150—200 г.

Антиген для иммунизации готовили из мозга крысят-сосунков первых дней жизни, зараженных вирусом Синдбис (штамм Eg Ag 339) или вирусом западного энцефаломиелиита лошадей (WEE). В работу брали антиген с титром не ниже $6 \lg \text{ТЦД}_{50}/0,1 \text{ мл}$. Его вводили крысам внутрибрюшинно. На следующий день после последней иммунизации прививали асцитическую опухоль яичника крысы (штамм ОЯ).

Спустя 8—10 дней с момента введения опухоли иммунным животным из их брюшной полости извлекали жидкость

(I порция), спустя 2—4 дня забор повторяли (II порция). Одновременно животных тотально кровопускали.

Иммунную асцитическую жидкость (ИАЖ) дефибрировали, встряхивая во флаконах с бусами, центрифугировали, объединяли в серии, разливали по 0,5 мл в ампулы, замораживали при -40° и лиофилизировали в аппарате КС-6 в течение 24 часов.

В ИАЖ изучали белковый состав, спектр антител, специфические свойства I и II порций.

Содержание гемагглютинирующих и комплементсвязывающих антител определяли по общепринятым методикам с диантикумами вирусов Синдбис, западного (WEE) и венесуэльского (VEE) энцефаломиелиитов лошадей, клещевого энцефалита, изготовленных предприятием СНИИВИ. Вируснейтрализующие антитела определяли в реакции нейтрализации на культуре куриных фибробластов по общепринятой методике. Реакцию преципитации ставили по Оухтерлони, реакцию непрямой иммуофлюоресценции (ИМФА) — по Уэллеру, Кунсу (1954).

Асцитные жидкости с титром в ИМФА не ниже 1:160 метили флюоресценцизоцианатом (ФИТЦ) по методике Шаханной (1968).

Использовали 16 схем иммунизации. Они отличались по силе антигенного стимула, продолжительности иммунизации, кратности введения антигена и величине интервалов между инъекциями.

Установлено, что кратность иммунизации играет меньшую роль для получения высокотитражных асцитов, чем величина интервалов между инъекциями. Наиболее высокие титры антител получены по схеме, состоящей из двух инъекций антигена в возрастающей дозе с интервалом 21—28 дней.

Титры антител в иммунных асцитах определялись в РТГА до 1:5024, РСК — до 1:1280, РИ — до 1:256, РДПА — до 1:512, ИМФА — до 1:320.

ИАЖ исследовали на специфичность с некоторыми арбовирусами группы А и В (вирусами венесуэльского энцефаломиелиита лошадей и клещевого энцефалита). Исследования показали, что в РСК, РДПА, РИ они были высокоспецифичны и не давали перекрестов с указанными антигенами. Что касается РТГА, то введение антигена Синдбис сопровождается появлением антител к вирусу WEE, и наоборот. Соотношение

между гомологичными и гетерологичными антителами было неодинаковым, но, как правило, титр гетерологичных антител был на 3—4 порядка ниже гомологичного. Антигемагглютинины к вирусу клещевого энцефалита не выявлялись, к вирусу ВЕЕ они были невысоки (1:20—1:40).

В РДПА наблюдалось формирование одной отчетливой полоски, изредка их было две.

Не было отмечено существенной разницы титров антител в ИАЖ и сыворотках, наблюдались почти одинаковые закономерности нарастания антител в том и другом субстрате. В ИАЖ примерно на 1/5 меньше белка, чем в сыворотке, что благоприятно сказывается на метке антител ФИТЦ. Краеящие титры в прямом методе иммуофлюоресценции были до 1:128.

Установлено, что в ИАЖ ингибиторов гемагглютинации содержится, как правило, в 2—8 раз меньше сыворотки и обработка каолином надежно их снимает.

Как показали приведенные материалы, метод получения ИАЖ крыс достаточно прост, дает хорошую продукцию иммунной жидкости. ИАЖ к вирусам Синдбис и ВЕЕ содержат гемагглютинирующие, комплементсвязывающие, нейтрализующие и преципитирующие антитела в достаточно высоких титрах и могут быть использованы для серологических реакций вместо сывороток.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА РЕЗИДУАЛЬНУЮ ИНФЕКЦИОЗНОСТЬ КОМПЛЕКСОВ ВИРУС—АНТИТЕЛО ПРИ КЛЕЩЕВОМ ЭНЦЕФАЛИТЕ

М. С. СЛУЦКАЯ, В. М. МИНЛЕВА, Т. Г. ПАРХОМЕНКО

Пермский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцин и сывороток

Ранее нами было показано, что при контакте вируса клещевого энцефалита с противовирусными антителами определенная часть вирусной популяции сохраняет свою инфекциоз-

ность, несмотря на избыток антител (Минаева с соавт., 1967). Аналогичные наблюдения имеются и в отношении других вирусов (Дульбекко с соавт., 1956; Мендил, 1960; Ноткинс, Капровский, 1973 и др.).

В настоящей работе представлены материалы по изучению некоторых вопросов, связанных с природой остаточной инфекциозности вируса клещевого энцефалита (КЭ) в смеси со специфическим гамма-глобулином. В частности, изучали влияние свойств вирусного штамма, роль клеточной системы, используемой для индикации резидуальной инфекциозности, влияние антигамма-глобулиновой сыворотки на нейтрализуемость вируса КЭ специфическим гамма-глобулином.

Для выяснения влияния свойств вирусного штамма на величину резидуальной инфекциозности были испытаны 2 штамма вируса КЭ: штамм Софьи и штамм Нург СЕС 400. Готовили 3 образца из штамма Софьи: первый (Соф.) — исходный вариант, многократно пассировался в мозге белых мышей; второй прошел дополнительно 2 пассажа в культуре клеток куриных фибробластов (Соф.—КФ); третий — 5 пассажей в культуре клеток ПЭС (Соф.—ПЭС). Штамм Нург СЕС 400 пассировали в клетках куриных фибробластов. Все образцы смешивали с равным объемом противэнцефалитного гамма-глобулина, инкубировали 1 час при 37°C, после этого в них определяли резидуальную инфекциозность путем титрации на белых мышах в мозг. Наряду с этим во всех образцах определяли индекс инвазивности.

Самой большой резидуальной инфекциозностью обладал образец штамма Софьи, пассируемый в мозге белых мышей. Варианты этого штамма, полученные путем пассажей в культуре клеток куриных фибробластов (Соф.—КФ) и клетках ПЭС (Соф.—ПЭС), и штамм Нург СЕС 400 обладали значительно меньшей остаточной инфекциозностью.

Таким образом, степень нейтрализуемости вируса КЭ изменяется при пассировании в различных клеточных системах, т. е. величина резистентной фракции в популяции не является стабильным признаком, а зависит от клеточной системы, в которой пассируется вирус. Не нейтрализуемая резистентная фракция была большей у вирусных образцов, характеризующихся низким индексом инвазивности.

Выявлена зависимость величины не нейтрализуемой вирусной фракции от клеточной системы, используемой для индикации. При введении смеси вируса со специфическим гамма-

глобулином белым мышам в мозг резидуальная инфекциозность составила $4,0 \pm 0,3$ Ig ЛД₅₀; при введении этого же материала мышам подкожно резидуальная инфекциозность составила $1,5 \pm 0,5$ Ig ЛД₅₀, при введении мышам алиментарным путем остаточная инфекциозность не определялась вообще. По-видимому, инфекциозность вируса при разных путях введения животному зависит от наличия или отсутствия нескольких разных рецепторов, которые могут нейтрализоваться только частично при использовании специфического гамма-глобулина. При этом рецепторы, ответственные за вирулентность при внутримозговом заражении, могут оставаться не нейтрализованными, в то время как рецепторы, ответственные за инфекциозность при подкожном и алиментарном заражении, нейтрализуются более полно.

В опытах по изучению влияния антигамма-глобулиновой сыворотки на степень нейтрализуемости вируса КЭ противоэнцефалитным гамма-глобулином были использованы штамм Софьи, специфический противоэнцефалитный лошадиный гамма-глобулин и антигамма-глобулиновая сыворотка кроликов (АГЛ). Вирус в количестве 10^7 ЛД₅₀/0,03 мл смешивали с равным объемом противоэнцефалитного гамма-глобулина. Смесь инкубировали при температуре 37°. Через определенные промежутки времени (5 минут, 30 минут, 1 час) забирали пробу, которая делилась на два образца. Один из них смешивали с равным объемом АГЛ, а в другой — контрольный — образец вместо антигамма-глобулиновой сыворотки добавляли нормальную кроличью сыворотку. Все образцы инкубировали 18 часов при 40°C, после чего определяли их остаточную инфекциозность.

Титр вируса в контрольных образцах при использовании цельного гамма-глобулина составлял 4,5 Ig, при этом количество нейтрализованного специфическими антителами вируса составляло примерно 2,5 Ig. В опытных образцах, взятых после 5 минут инкубации, титр вируса составлял 2,7 Ig, при этом количество нейтрализованного вируса составляло 4,3 Ig. Таким образом, добавление антигамма-глобулиновой сыворотки в этом случае увеличивало нейтрализуемость вируса КЭ специфическими антителами на 1,8 Ig. При инкубации 30 минут и 1 час титр вируса в контрольных и опытных образцах был одинаков и составлял 4,5 Ig. Во второй серии опытов к вирусу добавляли одновременно гамма-глобулин и АГЛ. При этом

также наблюдалось увеличение нейтрализуемости вируса. Рецидивная инфекционность вируса в смеси с гамма-глобулином составила 4,5 Ig, при добавлении АГЛ — 3,5 Ig. В данном случае нейтрализуемость вируса возросла примерно на 1,0 Ig. Таким образом, при контакте вируса клещевого энцефалита с противовирусным гамма-глобулином определенная часть вирусной популяции (не нейтрализуемая фракция) сохраняет свою инфекционность, несмотря на избыток антител.

Величина не нейтрализуемой фракции зависит от свойств испытуемого вирусного образца. Не нейтрализуемая фракция больше у образцов с низким индексом инвазивности. Оценка степени нейтрализуемости вируса зависит от клеточной системы-хозяина, используемой для индикации. Антигамма-глобулиновая сыворотка стимулирует нейтрализуемость вируса КЭ специфическим гамма-глобулином при условии предварительного соединения антивирального гамма-глобулина и антисыворотки к нему. По-видимому, в данном случае происходит укрупнение молекулы антител, что приводит к более полному блокированию поверхности вириона.

КОНЦЕНТРАЦИЯ ВИРУСА ЛИМФОЦИТАРНОГО ХОРИОМЕНИНГИТА ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЕМ

Н. Б. ЧЕРНЫЙ

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

В настоящем сообщении приводятся результаты концентрации вируса лимфоцитарного хориоменингита (ЛХМ), штамм Са 1371, полиэтиленгликолем (ПЭГ) с молекулярным весом 6000 и 3000.

Материалом для концентрации вируса служила вируссодержащая культуральная жидкость клеток эмбриона курицы (КЭК) с различным содержанием NaCl (0,15 и 0,45 М). Перед добавлением ПЭГ вируссодержащую суспензию осветляли центрифугированием при 3000 об/мин в течение 15 минут и доводили до pH 7,4—7,6 с помощью 0,1 М NaOH. В отдельных опытах устанавливали величину pH 7,8 и 8,3. ПЭГ добавляли непосредственно к вируссодержавшему материалу до ко-

конечной концентрации от 6 до 12%. Смесь энергично встряхивали до полного растворения ПЭГ и оставляли при 4° на 18 часов, после чего ее центрифугировали 30 минут при 6000 об/мин. Надосадочную жидкость сливали, а полученный осадок ресуспендировали в фосфатном буфере (рН 7,3) в объеме, в 100 раз меньше первоначального. Эффективность концентрации оценивали по комплементсвязывающей активности.

Предварительным этапом наших исследований было определение оптимальной величины рН среды, необходимой для более полного осаждения вируса ЛХМ из смеси. В результате опытов, проведенных с использованием ПЭГ-6000 и исходного материала с различным содержанием NaCl (0,15 и 0,45 М), установлено, что оптимальная зона рН находится в пределах 7,4—7,8 для обеих молярностей NaCl. Следующим этапом исследований было сравнительное изучение концентрирующей способности (по отношению к данному вирусу) ПЭГ с различным молекулярным весом (6000 и 3000) в зависимости от его конечной концентрации в растворе и содержания NaCl. Проведенные опыты показали, что наиболее эффективная концентрация вируса ЛХМ (соответствующая объемной концентрации) ПЭГ-6000 наблюдается при добавлении его к вирусосодержащей культуральной жидкости до конечной концентрации от 6 до 9%. При таком количестве ПЭГ оптимальными оказались как изотоническая (0,15 М), так и повышенная концентрация (0,45 М) хлористого натрия в среде в условиях рН 7,6. Не менее эффективным оказалось также применение для концентрации данного вируса ПЭГ-3000. Однако для этого требовалась большая конечная концентрация полимера от 9 до 12% при изотоническом содержании NaCl в среде. Необходимо также отметить, что в ряде случаев получены хорошие результаты при концентрации ПЭГ-3000 в смеси 6% в условиях гипертонического содержания NaCl в исходном материале.

При анализе полученных данных видно, что для концентрации культурального вируса ЛХМ с успехом может быть применен как ПЭГ-6000, так и ПЭГ-3000 в условиях слабощелочной (рН 7,4—7,8) реакции среды.

СЫВОРОТКИ И АНАТОКСИНЫ

ПУТИ И МЕТОДЫ ПОВЫШЕНИЯ КАЧЕСТВА АНАЭРОБНЫХ АНТИТОКСИЧЕСКИХ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ СЫВОРОТОК

Ю. Б. ЛУКИН, Т. А. БАТАЛОВА, А. В. КОРНИЛОВА

Уфимский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток
им. И. И. Мечникова

В практике здравоохранения наиболее употребляемыми антитоксическими сыворотками являются противостолбнячная, противоботулиническая, противогангренозные. Поэтому повышение их качества является одной из важных проблем сывороточного производства.

Повышение титра нативных сывороток путем улучшения метода отбора продуцентов, подбора высокоактивных антигенов, применения различных адьювантов дали возможность в некоторой степени улучшить качество сывороток.

Практика производства сывороток в нашем институте показала, что наиболее эффективным методом повышения антитоксенообразования у лошадей-продуцентов антитоксических сывороток является создание отдаленного грунта. Предусматривается 2—3-месячный интервал между окончанием грунта и началом цикловой иммунизации.

Использование различных методов очистки и концентрации анаэробных сывороток (Диаферм-3 и его модификации, Просидне, различные варианты с применением сорбентов) не обеспечили повышения удельной активности антитоксических анаэробных сывороток.

Нами была предпринята попытка повысить титр сывороток путем дополнительной очистки их при помощи геля гидроксида алюминия с последующей ультрафильтрацией. Такой способ позволил поднять титр сыворотки еще вдвое при минимальных потерях антитоксина. Удельная активность препарата возросла в 1,4 раза.

Однако отсутствие аппаратуры для ультрафильтрации затрудняет внедрение этого метода в практику сывороточного производства.

Поскольку ни один из способов неспецифической очистки антисыворотки не дал возможности получить высокоочищенные препараты, мы использовали иммуносорбцию. В работу был взят клатратный иммуносорбент, предложенный Хавкиным. Последний обладает высокой емкостью, может быть использован многократно и позволяет приготовить препараты, в 4—5 раз превышающие по активности сыворотки, полученные методом Днаферм-3.

Таким образом, проведенные исследования дают основания считать метод иммуносорбции наиболее перспективным для получения высокоочищенных антитоксических сывороток, но для внедрения его в практику сывороточного производства необходимо продолжить изыскания в этой области.

К ВОПРОСУ УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ПРОИЗВОДСТВА ПРОТИВОБОТУЛИНИЧЕСКОЙ СЫВОРОТКИ

Г. Е. СИНЕЛЬНИКОВ, К. Т. КОЗЛОВА, Т. А. ВАСИЛЬЕВА,
С. А. СОЛОВЬЕВА

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцин и сывороток

Опасность возникновения ботулинической токсикоинфекции существует постоянно ввиду повсеместного распространения кл. ботулизма в природе. В связи с этим вопросы совершенствования производства антитоксических противоботулинических сывороток, являющихся единственным специфическим средством лечения и экстренной профилактики указанного заболевания, не утрачивают своей актуальности.

Наши исследования в этом направлении касались улучшения качества используемых для иммунизации антигенов, изыскания наиболее рациональных схем эксплуатации продуцентов.

Качество антигена во многом определяется особенностями взятого для его изготовления штамма, возрастом последнего, условиями культивирования возбудителя и другими факторами. Сравнительное изучение антигенов, полученных на ос-

нове производственных штаммов кл. ботулиnum типа А — 96 и 363, типа В — 255 и 364, типа Е — 153, 503, 341, показало, что качество последних выше при использовании штаммов 363, 364, 503 и 341. Было установлено, что для усиления активности токсинов целесообразно использовать селекцию штаммов с целью отбора высокотоксигенных колоний. Активность получаемых токсинов в значительной степени зависит от используемых углеводов. Изучение токсинообразования кл. ботулиnum типов А и В при добавлении в среду некоторых углеводов и их сочетаний показало, что наиболее активный токсин получается при использовании сочетания 1% глюкозы с 1% мальтозы. Для возбудителя ботулизма типа Е лучшее токсинообразование наблюдается при добавлении в среду 0,5% глюкозы с 0,6% растворимого крахмала.

Важное значение в практике применения токсинов для гипериммунизации лошадей имеет срок, в течение которого последние сохраняют свою активность. Изучение стабильности токсинов типов А, В, Е в процессе хранения показало, что ботулинический токсин типа В через 2 недели хранения снижает свою активность на 72%, достоверное уменьшение активности токсина типа А наблюдается к концу первого месяца хранения. Ботулинический токсин типа Е полностью сохраняет антигенные свойства в течение 3 месяцев хранения.

С целью удешевления производства антигенов изучалась возможность культивирования возбудителей ботулизма на мясных средах с использованием конины, являющейся отходом сывороточного производства. Полученные при этом токсины по активности не уступали таковым, изготовленным на средах из говядины. Показана возможность использования для гипериммунизации животных ботулинических токсинов, приготовленных на основе китово-кукурузной среды. Результатом улучшения качества ботулинических антигенов было значительное удешевление изготовления сывороток и повышение их активности.

При улучшении схем гипериммунизации животных нами были рассмотрены вопросы, касающиеся поливалентного грундирования и соотношения антигенов при получении трехвалентной сыворотки.

Необходимость обязательной подготовительной иммунизации, создающей у продуцентов состояние грундимунитета, который служит основой для эффективной последующей эксплуатации, показана давно. Тем не менее всегда имеется оп-

ределенное число рефрактерных особей, которые в течение подготовительного периода и первых циклов гипериммунизации являются иммунологически инертными к применяемому антигену. Такие продуценты весьма успешно могут быть переведены под другой вид иммунизации и иметь высокую специфическую реактивность к новому антигену. Перевод продуцентов под другой вид иммунизации требует времени и экономических затрат на дополнительное грундирувание. Весьма рациональной в свете сказанного представляется подготовительная иммунизация будущих продуцентов комплексом антигенов, что расширит иммунологические возможности животных и позволит при необходимости переводить их под другой тип иммунизации без дополнительной грунديمмунизации.

В этом направлении были предприняты экспериментальные наблюдения на кроликах с последующей проверкой на лошадях. Изучалось влияние грунديمмунизации антигенами различной сложности: семивалентным анаэробным антигеном (столбнячный, противогангренозные перфрингенис, эдематинис, вибриосептикум, противоботулинические типов А, В, Е), триантигенами — гангренозным и ботулиническим, а также моноантигенами, составляющими изучаемый комплекс, на интенсивность антителообразования при последующей гипериммунизации.

Результаты наблюдений показали, что при двухкратном грундирувании семивалентным антигеном иммунологическая перестройка наблюдается в отношении каждого компонента. Последующая гипериммунизация моно- и трехвалентными ботулиническими антигенами типов А, В, Е приводила к получению моно- и трехвалентных сывороток с неменьшей активностью, чем при обычных методах грундирувания. Сила грунديمмунитета к компонентам комплексного антигена позволяет осуществить перевод с одного вида гипериммунизации на другой без дополнительного грундирувания.

В результате проведенного исследования рекомендован комплексный антиген с определенными дозами компонентов для подготовительной иммунизации продуцентов анаэробных сывороток.

Ввиду того, что заболевание ботулизмом может быть вызвано различными типами возбудителя, в начальный период болезни применяют поливалентную сыворотку или смесь моновалентных. Получение поливалентной сыворотки при иммунизации одного продуцента комплексом ботулинических ан-

тигенов экономически значительно выгоднее, чем смешиванием моновалентных.

В технологии изготовления поливалентной противоботуллинической сыворотки имеется ряд требующих разрешения моментов. Одним из таких моментов является необходимость разработки количественного соотношения между компонентами триантигена. Последнее связано с тем, что лечебная доза поливалентной сыворотки включает по 10000 МЕ антитоксинов типов А и Е и 5000 МЕ антител типа В, т.е. антитоксины типов А, В, Е находятся в дозе в пропорции 2:1:2. Указанные соотношения выгодно получать в нативной сыворотке, поскольку последние сохраняются при концентрации сыворотки в лечебной дозе ее.

Экспериментальные наблюдения, направленные на изучение антителообразования у кроликов в условиях грундирувания и гипериммунизации смесями ботуллинических антигенов типов А, В, Е с различными соотношениями компонентов, выявили зависимость пропорций антитоксинов в сыворотках от соотношения компонентов триантигена по единицам связывания, что указывает на целесообразность дозирования антигенов в комплексе с учетом их качества, а не объемов. Ориентировка на антигенные свойства компонентов триантигена дала возможность разработать наиболее рациональное соотношение между ними, которое позволяло получать сыворотку с пропорциями антитоксинов, отвечающих требованию лечебной дозы. Испытание триантигена с установленным в эксперименте соотношением компонентов в ограниченном опыте на крупных продуцентах показало целесообразность использования его при грундирувании и в I цикле иммунизации.

Таким образом, исследования, направленные на усовершенствование производства противоботуллинической сыворотки, дали положительный результат: 1) повышена активность и удешевлено изготовление противоботуллинических сывороток типов А, В, Е; 2) рекомендован комплексный анаэробный антиген для подготовительной иммунизации продуцентов; 3) разработаны соотношения компонентов триантигена типов А, В, Е при получении поливалентной сыворотки.

ИТОГИ ИЗУЧЕНИЯ СВОЙСТВ ПРОТИВОБОТУЛИНИЧЕСКОЙ СЫВОРОТКИ ИЗ КРОВИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

С. М. ПРЕГЕР, Н. Х. МУЗАФАРОВА, Г. Е. СИЦЕЛЬНИКОВ

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

Длительное применение сывороточных препаратов из крови лошадей привело к сенсбилизации большого количества людей к белку этого вида животных. Во избежание осложнений и с целью сохранения эффективности действия антитоксина многие авторы предлагают использовать сыворотку других видов животных (Кравченко, Резепов, 1960; Кравченко, 1964; Пшеничнов с соавт., 1968; Пушкарев, 1968, 1969, 1970 и др.). Нами была разработана технология получения очищенных и концентрированных методом пептического переваривания противоботулинических сывороток типов А, В, Е из крови крупного рогатого скота и проверены их свойства.

Изучение напряженности пассивного иммунитета проводили на животных и добровольцах. Наблюдения в эксперименте выполнены на 4 группах кроликов: I группе вводили внутримышечно 2000 МЕ очищенной Диаферм коровьей сыворотки типа Е, II контрольной — из крови лошадей, III — вводили внутривенно коровью сыворотку типа В, IV контрольной — лошадиную типа В. Для выявления напряженности пассивного иммунитета проводили титрование проб крови через 2,4 часа, 1, 2, 3, 4, 6, 7 и 10 суток после введения сыворотки.

Результаты наблюдений показали, что уже через 2 часа после первичного внутримышечного введения коровьей сыворотки типа Е в пробах крови выявляется антитоксин, содержание которого достигает максимального своего значения через 1 сутки, сохраняется на достигнутом уровне ко 2-м суткам, после чего начинает снижаться и к 7-м суткам практически не выявляется. При введении в тех же дозах лошадиной сыворотки динамика антитоксина сходная, однако уровень антител в крови выше во все сроки исследования и антитоксин из крови лошадей несколько дольше сохраняется в токе крови.

При внутривенном введении противоботулинической сыворотки типа В из крови крупного рогатого скота напряженность антитоксина максимальная через 2 часа (первый срок наблюдения), после чего содержание антител падает. Как и в предыдущем опыте, уровень антител из крови крупного рогатого скота во все сроки исследования ниже, чем уровень антител из крови лошади, и последние выявляются в токе крови дольше. Повторное введение через 25 дней этим же кроликам антитоксина сохраняет динамику изменения уровня антител в различные сроки наблюдения, однако напряженность титра антител ниже, чем после первичного введения, и антитела определяются менее длительно. Повторное введение сыворотки от другого вида животного выявило ту же динамику, что отмечалась и при двухкратном введении одновидовых сывороток.

Изучение напряженности пассивного иммунитета на волонтерах после введения им очищенной противоботулинической сыворотки типа В из крови коров и лошадей выявило те же закономерности, что и в эксперименте на кроликах.

Изучение лечебных свойств проводили на белых беспородных мышах весом 16—18 г. Было проверено 5 серий Днаферм-3 противоботулинической сыворотки типа Е из крови крупного рогатого скота и 3 — из крови лошадей. Для выявления лечебного эффекта белым мышам внутривенно инъецировали 1 ДЛМ токسينа, содержащегося в 0,5 мл и вызывающего гибель животных через 1—2 суток после введения. Через различное время после инъекции токسينа (3—4—5—6—7—8—9 часов) вводили внутривенно сыворотку Днаферм-3 в количестве 1 МЕ: одним животным из крови крупного рогатого скота, другим — из крови лошадей. За мышами вели наблюдение в течение 4 дней. Результаты наблюдений показали, что наилучший эффект достигается при лечении животных через 3—4 часа с момента заражения: предохраняется 100% мышей от гибели, 90—100% — от заболевания ботулизмом. По мере удлинения интервала между заражением и лечением увеличивается смертность животных. При этом различий в лечебном действии противоботулинической сыворотки из крови коров и лошадей не отмечается.

Проверка лечебного эффекта проводилась также на сенсibilизированных 0,2 мг белка животных; I группе с этой целью вводили очищенную методом Днаферм-3 сыворотку из крови крупного рогатого скота, II — из крови лошадей. Через

21 день после сенсibilизации животных заражали 1 ДЛМ токсина и через 5—7—9—10—11 часов начинали лечение введением 1 МЕ сыворотки одной половине мышей в каждой группе из крови лошадей, другой — из крови коров. Был получен однозначный лечебный эффект во всех подгруппах, однако следует отметить несколько большую выживаемость мышей при сенсibilизации и лечении разнообразными сыворотками.

Профилактические свойства проверялись на мышах путем внутривенного введения им 1 МЕ в 0,5 мл и последующего через 2—7 суток внутривенного введения 1 ДЛМ токсина. При такой постановке опыта профилактический эффект сыворотки не зависел от вида животного, от которого она была получена.

Авидность очищенной Днаферм-3 сыворотки изучали по скорости соединения антитоксина с токсином. С этой целью сыворотку типа Е разводили до содержания в 1 мл антитоксина, нейтрализующего опытную дозу токсина. Смесь в количестве 0,5 мл вводили внутривенно сразу же после приготовления и через 10—20—30—45 минут после выдерживания при комнатной температуре. Было проверено 5 серий из крови коров и 4 — из крови лошадей. Результаты наблюдений не выявили разницы в авидности по скорости соединения антитоксина из коровьих и лошадиных сывороток с токсином (введение невыдержанной смеси вызывало гибель животных, через 10 минут — животные болели, через 20 и больше минут — оставались здоровыми).

Изучение анафилактических свойств проводили 2 методами. По одной методике (Анджапаридзе, 1960) морских свинок I и III групп однократно сенсibilизировали 0,1 мл белка сыворотки из крови лошадей, II — из крови крупного рогатого скота. Через 2 недели животным I и II групп внутрисердечно вводили разрешающую дозу сыворотки в количестве 1—5—10—50—100—150—200—250—300—400 мг. белка, III — в том же количестве сыворотку из крови лошадей. Результаты оценивали по выживаемости животных. При такой постановке опыта использование для сенсibilизации и разрешающего введения разнообразных сывороток не вызвало гибели животных, применение же одновидных сывороток, как коровьих, так и лошадиных, дало примерно одинаковую гибель морских свинок.

В другой постановке опыта (Трубицина, 1974) морских свинок сенсibilизировали сывороткой Днаферм из расчета 20 мг белка: I группу — из крови лошадей, II — из крови коров. Через 21 день внутрибрюшинно вводили сыворотку в количестве 700—800—900—1000 мг белка одной подгруппе из крови лошадей, другой — из крови коров. Оценка количества реакций на одно животное выявила однозначность результатов при сенсibilизации и разрешающем введении одновидовых сывороток. Количество реакций уменьшалось при введении разновидовых сывороток.

Изучение индивидуальной чувствительности добровольцев к ферментированному белку показало, что из 31 человека, которым внутрикожно было введено 0,1 мл разведенной 1:100 коровьей противоботулинической сыворотки типа В, у 4 (12,9%) проба оказалась положительной, а из 20 человек с кожной пробой на лошадиную сыворотку положительная реакция была у 5 (25%). Лица с отрицательной внутрикожной пробой не обнаружили какой-либо реакции на подкожное введение 0,1 мл цельной сыворотки. При введении профилактической дозы коровьей сыворотки 20 лицам у одного была незначительная субъективная реакция, у другого на 5-е сутки отмечалось повышение температуры до 37,5°, кожный зуд и разлитая гиперемия с элементами сыпи. Из 5 лиц, получивших лошадиную сыворотку, реакция наблюдалась у одного на 5-е сутки.

Таким образом, выявлена меньшая чувствительность людей к коровьему белку, чем лошадиному. В то же время показано, что лошадиные сыворотки Днаферм создают более напряженный пассивный иммунитет, однако лечебные и профилактические свойства их одинаковы. При введении же сенсibilизированным животным разновидовых сывороток уменьшается число анафилатогенных реакций, несколько усиливается лечебный эффект.

МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К РАЗРАБОТКЕ СООТНОШЕНИЙ АНТИГЕНОВ ПРИ ПОЛУЧЕНИИ ПОЛИВАЛЕНТНОЙ СЫВОРОТКИ

Т. А. ВАСИЛЬЕВА

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцин и сывороток

В настоящее время узаконен выпуск поливалентной противогангренозной и противоботулинической сывороток, лечебная доза которых включает определенное количество антитоксина каждого типа. Главной задачей, стоящей перед сывороточным производством при их изготовлении, является получение высоких титров антитоксинов и пропорций между ними, отвечающих требованию лечебной дозы.

При изготовлении поливалентной противоботулинической сыворотки грундирование и I цикл гипериммунизации проводят полнантигеном, включающим анатоксины различной активности в равных объемных дозировках. Со II или III циклов объемы антигенов назначают индивидуально для каждого продуцента, в зависимости от титров антитоксинов, полученных в предыдущем цикле (Королева с соавт., 1958; Фрейман с соавт., 1967; Омарова, Комиссаров, 1974). При таком дозировании в зависимости от активности применяемого в данный момент антигена каждого типа продуцент получает в каждом конкретном случае и антигенное раздражение различной силы, несмотря на то, что используются одинаковые объемы антигенов. О целесообразности дозирования антигенов по единицам связывания имеется сообщение Комковой (1959), в котором даны количественные соотношения компонентов гангренозного полнантигена по ЕС. Подобных данных, касающихся получения поливалентной противоботулинической сыворотки, мы в литературе не встретили.

В свете сказанного нам представлялось необходимым предпринять исследование с целью экспериментального обоснования целесообразности дозирования компонентов в полнантигенах при получении поливалентных сывороток по антигенным единицам, а не по объему. Однако выяснение вопроса о зависимости пропорций антитоксинов в сыворотках от соотношения компонентов комплекса по единицам связывания или по

объему не решает еще проблемы количественного соотношения компонентов в полнантигене.

Исследованиями Здродовского (1950), Алатырцевой (1953), Лариной (1966) показано, что слабые антигены угнетаются действием более сильных в антигенном отношении компонентов комплекса. Адекватный иммунологический ответ организма возможен за счет увеличения доли слабого антигена в дозе в сравнении с сильным. Однако чрезмерно большие дозировки слабых в антигенном отношении компонентов могут привести к угнетению продукции антител к остальным компонентам комплекса (Черкас с соавт., 1956; Дааль-Берг с соавт., 1960). На необходимость уравнивания дозировок и величины антигенного раздражения при поливалентной гипериммунизации продуцентов противоботулинических сывороток указывают Денчев с соавт. (1966), Денисова с соавт. (1968). Принимая во внимание вышесказанное, мы считали весьма целесообразным при разработке соотношений между компонентами полнантигена ориентироваться на антигенность токсоинов-анатоксинов.

Указанные теоретические предпосылки были положены нами в основу методического подхода к разработке наиболее рационального соотношения компонентов ботулинического триантигена типов А, В, Е, позволяющего получать поливалентную сыворотку с пропорциями антитоксинов, отвечающих требованию лечебной дозы.

Первым шагом к решению поставленной задачи было получение данных об антигенности ботулинических анатоксинов типов А, В, Е. Высказывается мнение (Учитель, 1976; Ryan, Lee, 1970), что между антигенностью белка и скоростью расщепления последнего в фагоцитирующих клетках существует прямая коррелятивная зависимость. В связи с этим методом иммуофлюоресценции изучалась скорость резорбции ботулинических анатоксинов типов А, В, Е в регионарных лимфатических узлах экспериментальных, животных в зависимости от объема вводимой дозы и количества ЕС в последней. На основании полученных в эксперименте данных о длительности пребывания ботулинических анатоксинов типов А, В, Е в фагоцитирующих клетках иммунокомпетентных органов было высказано предположение, что ботулинический анатоксин типа Е относится к сильным антигенам, анатоксин типа А — к слабым, некоторое среднее положение занимает антиген типа В.

Следующим этапом работы явилась разработка смесей ботулинических антигенов типов А, В, Е с различными по объему и единицам связывания соотношениями компонентов. Лекарственная доза поливалентной противоботулинической сыворотки включает по 10000 МЕ антитоксинов типов А и Е и 5000 МЕ антител В, т. е. антитоксины типов А, В, Е находятся в дозе в соотношении как 2:1:2. При разработке смесей с различными по ЕС пропорциями компонентов дозирование антитоксинов осуществляли из расчета, чтобы на 1 часть сильного антигена типа Е приходилось от 5 до 20 частей слабого антигена — анатоксина типа А, поскольку последний должен был обеспечить одинаковый с типом Е уровень антител, и от 1 до 3 частей антигена со средней активностью — анатоксина типа В, так как уровень антитоксина типа В в сыворотке в 2 раза ниже такового к типу Е. Кроме того, с целью выяснения влияния объемных соотношений компонентов триантигена на пропорции антитоксинов в сыворотках были поставлены группы животных, иммунизированных полнантигенами с одинаковыми по объему, но различными по ЕС, и одинаковыми по ЕС, но различными по объему соотношениями компонентов.

В результате проведенных исследований было установлено, что пропорции антитоксинов в сыворотках определяются соотношениями компонентов полнантигена по единицам связывания, что указывает на целесообразность дозирования антигенов по ЕС, но не по объему. Наиболее рациональным соотношением компонентов ботулинического триантигена типов А, В, Е, позволяющим получить в эксперименте сыворотку с пропорциями антитоксинов, отвечающих требованию лечебной дозы, является соотношение А:В:Е как 5:1:1. Указанное соотношение подтверждает правильность учета при разработке смесей антигенности компонентов, составляющих комплекс. Использование полнантигена с установленными пропорциями компонентов в ограниченном опыте на крупных продуцентах показало рациональность применения его при грундировании и в I цикле гипериммунизации.

Таким образом, на примере получения поливалентной противоботулинической сыворотки показана целесообразность подхода к разработке соотношений компонентов в полнантигенах с учетом антигенности составляющих комплекс токсинов-анатоксинов.

УСКОРЕННЫЙ МЕТОД ПОЛУЧЕНИЯ ВЫСОКОТИТРАЖНЫХ МОНОВАЛЕНТНЫХ ПРОТИБОБОТУЛИНИЧЕСКИХ СЫВОРОТОК ТИПОВ А и В

Л. Н. ШАГАНОВ, А. А. ДЕМЕНТЬЕВА

Ставропольский научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

При получении моновалентных противоботулинических сывороток согласно производственному регламенту (МРТУ-42 1966 г.) в первые два цикла иммунизации лошадям вводится анатоксин, а затем нативный токсин. Фрейман с сотр. (1966) показали, что при применении нативного ботулинового токсина для гипериммунизации лошадей во II цикле получен хороший иммунологический эффект. Задачей настоящей работы явилось получение высокотитражных моновалентных противоботулинических сывороток типов А и В от лошадей, которым нативный токсин вводится после третьей инъекции анатоксина в I цикле. Под наблюдением находилась 121 лошадь, из них иммунизировались антигеном типа А—47 и антигеном типа В—74. Гипериммунизация лошадей проводилась по опытной схеме, предусматривающей раннее применение токсина, и по контрольной (регламентной).

Полученные результаты свидетельствуют о явном преимуществе опытной схемы иммунизации по сравнению с контрольной. Так, у лошадей, иммунизированных антигеном типа А по опытной схеме, титр анитоксина в крови в I цикле составил 845 МЕ/мл, в контроле — 34, во II — соответственно 967 и 250, в III — 1103 и 575, в IV — 1221 и 830. У лошадей, иммунизированных антигеном типа В по опытной схеме, были получены аналогичные результаты: в I цикле титр анитоксина в крови опытных лошадей был 380 МЕ/мл, контрольных — 14, во II — 453 и 58, в III — 527 и 128, в IV — 542 и 241.

Таким образом, применение нативного токсина для иммунизации лошадей в I цикле подготовительного периода позволяет получить высокотитражные моновалентные противоботулинические сыворотки типа А — во II, а типа В — в I циклах.

Для раннего выявления иммунологической реактивности животных определяли титры антител после первых 3 инъекций смеси анатоксина типов А, В, Е (5—10—20 мл). Затем

первая группа лошадей иммунизировалась нативным токсином типа А, вторая — токсином типа В. Первая группа включала 31 лошадь, из которых 23 содержали в крови антитоксин типа А 5—20 МЕ/мл (после третьей инъекции) и 8 лошадей — менее 5 МЕ/мл. Вторую группу составили 50 голов, в том числе у 41 в крови содержалось антитоксина типа В 5—20 МЕ/мл, у 9 — менее 5 МЕ/мл. Проведенные исследования показали, что при гипериммунизации животных в течение четырех циклов токсином типа А антителообразование было на более высоком уровне у лошадей с исходным титром 5—20 МЕ/мл. К концу подготовительного периода (IV цикл) среднее количество антитоксина в крови составило 1500 МЕ/мл, у отдельных лошадей — 1700—2000 МЕ/мл. Все лошади во II цикле стали активными продуцентами. Слабореактивными в иммунологическом отношении оказались лошади, в крови которых находилось менее 5 МЕ/мл. Из 8 животных лишь 1 лошадь переведена в продуценты, остальные выбракованы по низкому титру.

Содержание антитоксина в крови лошадей, иммунизированных токсином типа В, было также значительно выше у животных, в крови которых после третьей инъекции было 5—20 МЕ/мл, в I цикле практически все лошади стали продуцентами (310 МЕ/мл). К концу подготовительного периода титр антитоксина возрос до 410 МЕ/мл. Антителообразование было значительно меньшим у лошадей, содержащих в крови менее 5 МЕ/мл: в I цикле — 138 МЕ/мл, в IV — лишь 218 МЕ/мл. К концу подготовительного периода 2 лошади из 9 стали продуцентами.

Таким образом, наши данные указывают на целесообразность определения иммунологической реактивности лошадей на ранних этапах подготовительного периода для получения высокотитражных противоботулиновых сывороток типов А и В.

Изучение некоторых факторов неспецифической реактивности при иммунизации животных по двум схемам не выявило различий в фагоцитарной и лизоцимной активности.

ПОЛУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНО ВЫСОКОАКТИВНЫХ ПРОТИВОАНГРЕНОЗНЫХ ПОЛИВАЛЕНТНЫХ СЫВОРОТОК В УСЛОВИЯХ ПРОИЗВОДСТВА МОСКОВСКОГО НИИВСа им. И. И. МЕЧНИКОВА

В. Д. НИКИТИН, М. Т. НИКИТИНА, В. И. ТРУБИЦИНА,
В. П. ВАСИЛЬЕВ, Р. К. СУЧКОВА

Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток
им. И. И. Мечникова, Москва

Повышение качества любой промышленной продукции является первостепенной государственной задачей. Улучшение технико-экономических и качественных показателей при производстве лечебно-профилактических препаратов, по вполне понятным причинам, имеет особое значение.

Более высокая специфическая активность, в частности, антитоксических сывороток приводит к увеличению нагрузки антитоксина на единицу белка, к уменьшению профилактической дозы, снижению возможных побочных реакций у больных, связанных с введением в организм чужеродного белка, повышению лечебной эффективности препаратов и уменьшению затрат на их изготовление.

Предприятие Московского НИИВСа производит противогангренозную поливалентную сыворотку (антиперфрингенс, антиэдематенс, антисептикум) со стабильной из года в год высокой специфической активностью.

Выпускной титр по показателю компонента, содержащего наименьшее количество антитоксина, равнялся в 1970 г. — 896 МЕ/мл, в 1971 г. — 986 МЕ/мл, в 1972 г. — 982 МЕ/мл, в 1973 г. — 955 МЕ/мл и в 1974 г. — 991 МЕ/мл; нагрузка на 0,1 г белка соответственно была: 672, 762, 769, 777, 794 МЕ.

Изучая на большом производственном материале, казалось бы, общеизвестные требования, обеспечивающие получение высококачественных сывороток, мы пришли к выводу, что вышеуказанные показатели возможно стабильно получать только при выполнении ряда оптимальных условий на этапах технологического процесса получения препарата.

К таким условиям, в первую очередь, относятся:

1) качество используемых животных. При этом важную

роль играют не только такие показатели, как порода, пол и возраст лошадей-продуцентов, но и те условия, в которых они выращивались, т. е. условия содержания и кормления животных в хозяйствах-поставщиках;

2.) методы и техника предварительной иммунологической подготовки (грундирования) лошадей;

3) качество антигенов и их соотношение в составе поли-антигенов с учетом возможной их конкуренции и синергии;

4) схемы введения антигенов. Они должны конструироваться не только по индивидуальным особенностям продуцентов, с точки зрения отдельных физиологических признаков животных, но и с учетом индивидуального, в иммунологическом отношении, поведения продуцентов, конкретно в том или ином цикле гипериммунизации.

Особое внимание необходимо обращать на проведение первого (подготовительного) цикла гипериммунизации, выдерживая полную антигенную нагрузку и не превышая забор крови от одного продуцента свыше 150—160 л в год.

Только строго придерживаясь выполнения комплекса перечисленных требований, возможно получать противогангренозные сыворотки с высокими титрами.

К ВОПРОСУ СТИМУЛЯЦИИ ИММУНОГЕНЕЗА У ЛОШАДЕЙ-ДОНОРОВ ПРОТИВОСТОЛБНЯЧНОЙ СЫВОРОТКИ

Б. Н. РАЙКИС, Н. И. АСТАХОВА, Л. Н. ШАГАНОВ

Ставропольский научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

Гипериммунные антитоксические сыворотки для пассивной иммунизации населения до настоящего времени имеют известное значение. В связи с этим определенную роль приобретают исследования, направленные на улучшение качества этого препарата, в частности, на этапе получения нативной противостолбнячной сыворотки, что в свою очередь зависит от эффективности методов стимуляции иммуногенеза у лошадей-доноров гипериммунных сывороток.

С этой целью предпринимались попытки использования разнообразных адъювантов, изыскания оптимальных интервалов между инъекциями, разных видов и доз вводимого антигена и т. д.

В Ставропольском НИИВСе на протяжении последних 15 лет накоплен материал, свидетельствующий о стимулирующем влиянии на иммуногенез у лошадей-доноров антитоксических сывороток столбнячного токسينа.

Комплексом иммунохимических, иммунологических, биохимических, морфологических исследований научно обоснована высокая иммунологическая эффективность и относительная безвредность столбнячного токسينа при введении его лошадям-продуцентам противостолбнячной сыворотки. Использование токسينа в период иммунологической подготовки животных (156 голов) способствовало выходу в продуценты 85% лошадей по сравнению с запланированным — 70%. Кроме того, применение токسينа в значительно меньших объемах (225 мл) сравнительно с дозами анатоксина (350 мл) обеспечило увеличение продолжительности эксплуатации таких животных в среднем на шесть циклов. По-видимому, это явилось результатом более щадящего влияния токسينа на печеночную ткань в отличие от анатоксина, препарата, существенно измененного под действием формалина и температурного фактора.

Указанными выше исследованиями был обоснован метод введения токسينа на самых ранних этапах иммунологической подготовки. В опыте на 180 лошадях было показано, что введение малых доз токسينа (5, 10, 20, 40 мл) после 4—5 инъекций анатоксина животным независимо от их реактивности позволило повысить количество антител до 790 МЕ/мл сравнительно с контрольной группой лошадей (600 МЕ/мл), получавших столбнячный анатоксин. Кроме того, гипериммунизация столбнячным токсином оказала положительное влияние не только на уровень содержания антитоксинов в крови, но и на их авидность. Нативные сыворотки, полученные от животных опытной группы, имели более высокую авидность.

Использование ботулинического токسينа по аналогичной схеме на протяжении многих лет позволило поддерживать на достаточно высоком уровне содержание антитоксина в крови у лошадей-доноров противоботулинической сыворотки типов А, В, Е.

Таким образом, многолетний опыт применения нативного столбнячного токسينа при гипериммунизации лошадей-проду-

центов противостолбнячной сыворотки по схемам, разработанным в Ставропольском НИИВСе, свидетельствует о целесообразности применения данного метода в производстве антитоксических сывороток.

СВОЙСТВА ПРОТИВОСТОЛБНЯЧНОЙ СЫВОРОТКИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЕХНОЛОГИИ ОЧИСТКИ И КОНЦЕНТРАЦИИ

О. В. КУЛЕШОВА, М. В. ЯРУНЦЕВА

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

Целью работы явилось изучение свойств противостолбнячной сыворотки, полученной различными методами очистки и концентрации: Диаферм-3 ИЭМ АМН СССР из плазмы и из общих глобулинов, Диаферм-3 в модификации Московского ИВС — условно Московский (Фрейман с соавт., 1966), Просдис-2 (Лисоченко, 1969) и методами, применяемыми в Югославии — в институте вакцины и сывороток «Торлак» в Белграде (условно Белградский) и институте иммунологии в Загребе (условно Загребский).

Исследованию подвергались титры концентрированных сывороток, коэффициент концентрации, процент белка, процент выхода антитоксина, нагрузка на 0,1 г белка, стабильность титра и белков, содержание сульфгидрильных групп, физические свойства, электрофоретический состав, анафилактические свойства, напряженность пассивного иммунитета, профилактические и лечебные свойства, авидность.

Анализ полученных материалов показал, что больший титр антитоксина и коэффициент концентрации отмечался у сывороток, очищенных методом Просдис-2 — 3050 МЕ/мл и 5,6; меньший у препаратов, приготовленных Загребским способом, — 1570 МЕ/мл и 3,0.

Процент белка концентрированных сывороток примерно одинаков (12,2—12,95%), немного ниже у препаратов, приготовленных по югославским методикам, соответственно 10,8 и 7,4% (Ярунцева с соавт., 1973). Наибольший выход антитоксина получен Московским методом (53,1%), затем Диа-

ферм-3 из общих глобулинов (45,3%) и из плазмы (45%).
Наименьший выход имел место при концентрации сывороток
Просдис-2 (34%), Загребским (30%) и Белградским (28,6%).
Лучшими по нагрузке на 0,1 белка оказались сыворотки,
изготовленные методом Просдис-2 — 2450 МЕ и Загребским —
2258 МЕ, ниже этот показатель у препаратов, полученных Мо-
сковским методом, — 1716 МЕ (Ярунцева с соавт., 1971).

Проверка стабильности титра по ускоренному тесту (37°
в течение 20 дней), а также хранение их в условиях фриго
при 4—8° в течение 6 месяцев и одного года показали, что сы-
воротки после 20-дневного выдерживания были стабильны.
При хранении серий во фриго через 6 месяцев отмечалось па-
дение титра у сывороток, очищенных Московским и Просдис-2
методами, соответственно на 22,8 и 13,2%; через один год на-
блюдения процент падения увеличился до 23,7 и 14,8%.

По данным Давыдовой (1966), в лабильных по титру ан-
тител противостолбнячных сыворотках в процессе хранения от-
мечается увеличение количества белковых сульфгидрильных
групп.

Полученные нами данные показали, что во всех образцах
сывороток, очищенных разными методами и выдержанных
в течение 20 дней при температуре 37°, отмечается небольшое
увеличение сульфгидрильных групп, однако наибольшее нара-
стание имеет место в сыворотках Московского и Просдис-2
методов. Эти препараты дали и при 6-месячном хранении ста-
тистически достоверное увеличение количества сульфгидриль-
ных групп и большее снижение титра антитоксина (Ярунцева,
Васильченко, 1972).

Физические свойства противостолбнячных сывороток, по-
лученных по разным схемам, после приготовления были хоро-
шими (прозрачны), а сыворотки, приготовленные Просдис-2
и Загребским методами, еще и бесцветные. При хранении об-
разцов препаратов в течение 1 года прозрачность сыворо-
ток, очищенных методами Просдис-2 и Загребским, полностью
сохранялась, после 2 лет хранения на дне формировался
небольшой осадок.

Препараты Днаферм-3 из плазмы и из общих глобулинов,
Московского и Белградского методов уже после 3-месячного
хранения изменяли свои физические свойства. В одних из них
в 50% случаев (Московский и Белградский) появилась опа-
лесценция и осадок, в других этот процент был меньше (Дна-

ферм-3 из плазмы и из общих глобулинов). Через 2 года хранения картина оставалась прежней.

Электрофоретический анализ показал, что сыворотки Просдис-2 и Загребского методов имели всего одну фракцию, тогда как все остальные препараты содержали 2 фракции.

Наблюдения за анафилактическими свойствами сывороток, полученных различными методами концентрации, свидетельствуют о том, что препараты Просдис-2 и Днаферм-3 из общих глобулинов менее анафилактичны, остальные сыворотки обладали более выраженными анафилактическими свойствами (Ярунцева, 1974).

Данные по напряженности пассивного иммунитета в крови кроликов при однократном и двухкратном введении 3000 МЕ противостолбнячной сыворотки выявили, что антитела в организме кроликов появились уже через 2 часа при первичном введении сывороток Днаферм-3 из плазмы, Просдис-2 и Белградского методов. Максимум антитоксина у всех сывороток отмечался на 2-е сутки, в большем титре — при введении сыворотки, очищенной Просдис-2. Длительность сохранения антитоксина в крови кроликов при первичной инъекции не зависела от метода концентрации. Повторное введение препаратов сопровождалось появлением максимума антитоксина на первые сутки для сывороток, полученных методом Просдис-2, и вторые — для сывороток, изготовленных методами Днаферм-3 из плазмы и Белградским. При этом отмечается более быстрое исчезновение антитоксина из крови животных — к 6-му дню у сывороток, очищенных Белградским методом, к 8-му дню — Просдис-2 и к 10-м суткам — Днаферм-3 из плазмы. Следует отметить, что противостолбнячная сыворотка, очищенная методом Просдис-2, при двухкратном введении кроликам создавала более напряженный пассивный иммунитет, быстрее всасывалась (через одни сутки) и раньше выводилась из организма (к 8-му дню), чем сыворотка, очищенная методом Днаферм-3 (Ярунцева, Прегер, 1975).

При проверке профилактических свойств (белым мышам внутримышечно вводили 1 МЕ сыворотки, а затем через 1—3—5—7—10—12 суток внутривенно инъецировали 1 ДЛМ токсина) не выявлена зависимость последних от метода концентрации, хотя степень выраженности явлений столбняка на 10-й день заражения животных была более выражена при использовании сывороток, очищенных методами Просдис-2, Заг-

ребским и Белградским (4-я степень), чем от применения сывороток, очищенных другими способами.

Не выявлена зависимость и лечебного действия от метода очистки и концентрации при введении испытуемых сывороток через 1 и 2 часа после заражения 1 ДЛМ. Использование сыворотки через 4 часа позволило установить, что наиболее выражены явления столбняка у животных, получивших препараты, приготовленные Просдис-2 (4-я степень), от лечения препаратами других методов очистки наблюдалась только первая степень заболевания. Ни одна сыворотка не обеспечивала выживания подопытных животных при инъекции ее через одни сутки после заражения токсином.

Выявлена взаимосвязь быстроты и прочности соединения антитоксина с токсином в сыворотках, полученных методами: Диаферм-3, Московским, Просдис-2, Белградским. Сыворотки, изготовленные первыми двумя методами, характеризовались как более авидные, а следующими способами — как менее авидные. При определении полноты соединения антитоксина с токсином выявлено, что препараты, изготовленные методами Просдис-2 и Белградским, по скорости и прочности соединения токсина с антитоксином являлись менее авидными, в то время как по полноте соединения антитоксина с токсином они характеризовались как более авидные.

Изучив все свойства противостолбнячных сывороток, полученных по различным технологическим схемам, мы считаем, что лучшими препаратами оказались сыворотки, очищенные и сконцентрированные методом Диаферм-3.

ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ ПРЕПАРАТА ДЛЯ ЭКСТРЕННОЙ РЕВАКЦИНАЦИИ ПРОТИВ БОТУЛИЗМА, ГАЗОВОЙ ГАНГРЕНЫ И СТОЛБНЯКА

**В. И. МЕЛЬНИКОВ, Ю. А. ШАРОНОВ, В. П. ЦАРАПКИН,
А. А. ПУШКАРЕВ, М. И. РОЙТМАН**

Уфимский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток
им. И. И. Мечникова

Создание иммунитета к ряду инфекций, сопровождающихся бактериальной интоксикацией, возможно лишь при пов-

торных прививках анатоксинами. Широко используемая в практике здравоохранения схема иммунизации столбнячными, дифтерийным, ботулиническими и гангренозными анатоксинами предусматривает двухкратное введение их с месячным интервалом и последующую ревакцинацию не менее чем через полгода. Таким образом, надежная защита от ряда токсикоинфекций требует предварительного грундирования, заключающегося в двухкратной первичной иммунизации. Для этого в нашей стране широко применяются комплексные препараты: коклюшно-дифтерийно-столбнячная вакцина и химическая брюшнотифозная вакцина с секстаанатоксином. Последний препарат, преимущественно предназначенный для профилактики анаэробных инфекций, окажется не пригоден в условиях, при которых необходимо проведение экстренной ревакцинации. В этих случаях он должен отвечать следующим требованиям:

1) не вызывать повышенные общие и местные реакции у привитых;

2) обладать свойствами, позволяющими использовать струйный метод введения с целью широкого охвата ревакцинуемых в сжатые сроки;

3) быть стабильным при длительном хранении.

По нашему мнению, для этого наиболее рационально изготовление сухого несорбированного секстаанатоксина, состоящего из очищенных ботулинических анатоксинов типов А, В и Е, гангренозных перфрингенса и эдематенса и столбнячного анатоксинов.

Предпосылкой для создания такого препарата послужили следующие результаты наших опытов.

1. При ревакцинации очищенными анатоксинами кроликов, предварительно двухкратно иммунизированных сорбированной брюшнотифозной вакциной с секстаанатоксином, титры антитоксинов у них оказались в 1,5—3 раза выше, чем у животных, ревакцинированных теми же препаратами, сорбированными на гидроксиде алюминия.

2. Ревакцинация очищенными анатоксинами добровольцев влекла за собой повышение остаточных титров антитоксинов в 10—20 раз. Таким образом, несорбированный секстаанатоксин оказался высокоэффективным при ревакцинации.

Иммуногенность очищенного секстаанатоксина в опытах на белых мышях нам определить не удалось. Одно-, двух-

и трехкратная иммунизация животных несорбированным препаратом не предохраняла их от гибели при внутривенном введении токсинов в дозах, принятых в испытаниях иммуногенности сорбированных анатоксинов. Однократная прививка секстаанатоксином, сорбированным на гидроокиси алюминия после сведения очищенных компонентов, также не предохраняла животных от гибели при введении 25 ДЛМ ботулинического токسينа типа Е и 50 ДЛМ столбнячного токسينа. Увеличение в 1,5 и в 2 раза прививочной дозы очищенного препарата, принятой при проверке иммуногенности сорбированных анатоксинов, не повышала резистентности белых мышей к ботулиническому токسينу типа Е и к столбнячному токسينу. Нужно думать, что при сорбции смеси анатоксинов связыванию столбнячного и ботулинического типа Е антигенов с частицами геля является наиболее слабой и, подобно несорбированным анатоксинам, они не вызывают пролонгированного воздействия, необходимого при первичной иммунизации. Доказательством этого является высокая иммуногенность тех же препаратов, сорбированных отдельно от других компонентов.

Двухкратная иммунизация животных вначале сорбированным, а затем несорбированным секстаанатоксином вела к выработке невосприимчивости их к токسينам в дозах, превышающих неспецифическую переносимость (более 1500 ДЛМ токسينа типа Е).

Таким образом, единственным критерием иммуногенности несорбированного секстаанатоксина, по нашему мнению, может служить иммуногенность монокомпонентов, предварительно сорбированных на гидроокиси алюминия в объемах, требуемых для испытаний.

В качестве показателя активности сведенного и высушенного секстаанатоксина может быть использована антигенность компонентов, выраженная в ЕС/мл. Наши исследования показали, что титры пяти из шести сведенных анатоксинов (кроме анатоксина эдематисенс) полностью сохраняются при разведении смеси до нужной концентрации физиологическим раствором и выдерживании препарата при 8—10° в течение нескольких месяцев. Анатоксин эдематисенс уже через 2—3 дня хранения такой смеси теряет часть своей активности. Для предотвращения этого мы использовали в качестве среды для разведения и высушивания раствор, содержащий сахарозу, лактозу, желатозу, глютаминовый натрий, тиомо-

чевину и аскорбиновую кислоту. При таком составе стабилизатора компонент эдематинес не терял активность при хранении жидкого препарата.

Для изготовления сухого препарата очищенные анатоксины сводили с таким расчетом, чтобы 1 мл смеси содержал по 30 ЕС ботулинического анатоксина типа А и анатоксина перфрингенса, по 6 ЕС ботулинических анатоксинов типов В и Е и по 10 ЕС анатоксинов столбнячного и эдематинес. Одну четверть объема препарата составлял стабилизатор. Перед высушиванием препарат разливали по 25 мл (50 прививочных доз) во флаконы или вакуумные ампулы емкостью 100 мл. Затем препарат замораживали на обкаточной машине и высушивали в сублимационной установке ТГ-15. Длительность сублимации составляла 48 часов при постепенном повышении температуры с -40 до $+35^{\circ}$. Вакуум в камере поддерживали на уровне 60—80 мк. По окончании высушивания флаконы с препаратом закрывали резиновыми пробками, а ампулы запаивали под вакуумом.

Все шесть компонентов лиофильно высушенного препарата полностью сохраняли свою первоначальную антигенную активность.

При ревакцинации добровольцев с помощью безыгольного инъектора сухой секстаанатоксин оказался не реактогенным препаратом, обладающим высокой иммунологической эффективностью. Его стабильность при хранении изучается.

УПРАВЛЕНИЕ РОСТОМ И ТОКСИНООБРАЗОВАНИЕМ КЛ. БОТУЛИНУМ ТИПОВ А и В

Н. Б. АЛЬБИЦКАЯ

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцин и сывороток

Литературные данные (Кушнарев, 1931; Карпов, Антонов, 1935; Кузин, 1949; Гольденберг, 1946; Иерусалимский, 1949) указывают на нарушение жизнедеятельности микроорганизмов при отсутствии или недостатке в питательных средах минеральных солей и ростовых факторов. Большая роль витаминов и микроэлементов обусловлена тем, что они необходимы

для построения биокатализаторов, поэтому при отсутствии их происходит выпадение соответствующих энзиматических реакций, что вызывает расстройство обмена веществ микроорганизмов.

Настоящее исследование посвящено изучению содержания железа, меди, кобальта и витаминов группы В (витамины В₁, цианокобаламин, биотин, пантотеновая кислота) в питательных средах, используемых для культивирования кл. ботулиnum типов А и В, динамике вышеуказанных микроэлементов и витаминов при культивировании возбудителя, влиянию дополнительного введения микроэлементов и витаминов на рост и токсинообразование кл. ботулиnum типов А и В с целью установления оптимального содержания их в среде культивирования.

Исследование содержания железа, меди и кобальта в процессе токсинообразования возбудителя ботулизма типов А и В на среде Глузмана показало, что количество изучаемых элементов снижалось при одновременном нарастании токсичности и антигенности. В процессе токсинообразования возбудителя ботулизма типов А и В на полусинтетической среде количество железа, меди колеблется около фоновых величин, а уровень кобальта падает на 5-е и 7-е сутки культивирования микроба. Токсинообразование на полусинтетических средах было чрезвычайно малым. Следует полагать, что одним из факторов, обуславливающих слабое токсинообразование возбудителя ботулизма типов А и В на полусинтетических средах, является низкое содержание рассматриваемых элементов.

Изучение содержания тиамин, цианокобаламина, биотина и пантотеновой кислоты в процессе культивирования возбудителя ботулизма типов А и В выявило изменение всех витаминов, что указывает на необходимость их для нормальной жизнедеятельности микроба. Уровень тиамин и цианокобаламина при культивировании кл. ботулиnum на среде Глузмана увеличивается, а биотин и пантотеновой кислоты — уменьшается.

Подбор оптимальных доз элементов и витаминов в питательных средах, используемых для культивирования возбудителя ботулизма типов А и В, велся на стандартной полусинтетической питательной среде — гидролизате казеина. Проведенные исследования показали, что обогащение питательных сред железом, медью и кобальтом в оптимальных дозах вы-

зывает стимуляцию токсинообразования на казеиновых средах. Добавки тиамина и витамина В₁₂ не изменяют токсинообразование и при больших дозировках угнетают его. Обогащение питательной среды витаминами В₃ и Н усиливает токсинообразование кл. ботулиnum типов А и В.

В результате исследований выявлено оптимальное содержание микроэлементов и витаминов в питательных средах, используемых для культивирования бактерий ботулизма типов А и В.

ПРИМЕНЕНИЕ ЛИОФИЛИЗИРОВАННЫХ КУЛЬТУР КЛ. БОТУЛИNUM ТИПОВ А И Е ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ОЧИЩЕННЫХ АНАТОКСИНОВ

Р. Г. ДАШКИН, В. П. ЦАРАПКИН, А. А. ПУШКАРЕВ,
В. И. МЕЛЬНИКОВ

Уфимский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток
им. И. И. Мечникова

При изготовлении очищенных ботулинических анатоксинов типов А и Е используют нестандартную питательную среду и нестандартный посевной материал, вследствие чего препараты значительно отличаются по своей активности: титры анатоксина типа А колеблются от 200 до 1500 ЕС/мл, типа Е — от 60 до 300 ЕС/мл. Получение и применение лиофилизированных культур позволило бы производить засева питательной среды одинаковым по качеству посевным материалом.

В 1973 г. в Уфимском НИИВСе определена возможность применения лиофилизированных культур кл. ботулизма типов А и Е для получения одноименных токсинов и отработана методика их использования при культивировании кластридий в стекле.

Целью настоящих исследований являлось получение промышленных серий очищенных ботулинических анатоксинов типов А и Е с использованием лиофилизированных культур. Для получения их к жидким культурам типа А, выращенным на китово-кукурузном бульоне, и типа Е, полученным на пептоне Мартена, прибавляли 1:1 среду с 5 % желатины и 7,5%

сахарозы, предварительно простерилизованную при 110° в течение 30 минут. Смесь разливали по 1 мл в ампулы емкостью 5 мл, замораживали при -50° и высушивали под вакуумом в аппарате КС-6 при -10° в течение 2 суток с последующим постепенным подогревом в течение суток до $+20^{\circ}$. Ампулы с высушенной культурой заполняли азотом, запаивали и хранили при $6-8^{\circ}$. Было изготовлено 7 серий сухой культуры типа А и 5 серий — типа Е.

При посеве сухую культуру разводили питательной средой, принятой для изготовления токسينа соответствующего типа. Полученную суспензию стерильно переносили в трехлитровую бутылку с той же средой и культивировали при 35° (культуру типа А) или при 25° (культуру типа Е). Односуточными культурами заражали питательную среду в культиваторах. Последующие стадии изготовления очищенных анатоксина производили в соответствии с регламентом производства сорбированного ботулинического трианатоксина 140-69.

Было изготовлено 13 серий очищенного препарата типа А и 14 серий — препарата типа Е (в том числе 6 серий с 8-часовым выращиванием перед засевом в реактор).

В наших опытах применение в качестве посевного материала жидких и сухих культур кл. ботулизма типа А давало однозначные результаты. Активность полученных токسينов и анатоксина была одинаковой, а средний титр как контрольных, так и опытных очищенных препаратов составил 350 ЕС/мл. Значительные колебания титров (от 150 до 700 ЕС/мл), имевшие место в опытной и контрольной группах препаратов, позволяют считать, что основным фактором стандартности являются особенности питательной среды, качество которой определяет активность очищенного анатоксина, несмотря на применение одного и того же посевного материала.

Активность токسينов типа Е, полученных при посеве питательной среды жидкими и сухими культурами, также была одинаковой. Однако очищенные анатоксины, полученные с применением лиофилизированных культур, имели более высокие титры, чем препараты, изготовленные с использованием жидких культур (215 ± 55 против 125 ± 34.5). Очевидно, токсин, полученный из лиофилизированных культур, имел большую стабильность, чем препарат, изготовленный с применением жидких культур.

Сокращение времени выращивания сухих культур кл. ботулизма типа Е перед засевом в культиватор до 8 часов заметно

снижает активность очищенных анатоксинов ($145 \pm 42,8$ ЕС/мл).

Таким образом, использование в качестве посевного материала сухих культур кл. ботулизма, предварительно инкубированных в течение суток на китово-кукурузной среде пептоне Мартена с кукурузным экстрактом, позволяло повысить активность изготавливаемых очищенных анатоксинов типа Е, но не влияло на активность препарата типа А. В то же время сухие культуры оказались более удобны в применении, так как позволили использовать одну и ту же серию в течение более длительного времени (1—1,5 года, срок наблюдения).

СТАБИЛЬНОСТЬ АНТИГЕННЫХ И ИММУНОГЕННЫХ СВОЙСТВ ОЧИЩЕННЫХ БОТУЛИНИЧЕСКИХ, ГАНГРЕНОЗНЫХ И СТОЛБНЯЧНОГО АНАТОКСИНОВ ПРИ ХРАНЕНИИ

В. П. ЦАРАПКИН, В. Н. МЕЛЬНИКОВ

Уфимский научно-исследовательский институт вакцины и сывороток
им. И. И. Мечникова

По некоторым данным, стабильность антигенных свойств очищенных ботулинических анатоксинов при хранении зависит от типа анатоксина, состава питательной среды и степени очистки препарата (Горфункель-Кошкина с соавт., Воробьев с соавт.).

В связи с этим представляло интерес изучить стабильность антигенных и иммуногенных свойств очищенных ботулинических, гангренозных и столбнячного анатоксинов, приготовленных в условиях производства.

Ботулинические токсины типов А и В были приготовлены на средах, основой которых являлся гидролизат китовой муки, типов Е и F — на средах из пептона Мартена. В основу среды для изготовления столбнячного токсина, токсинов перфрингенса и эдематисенса вошли соответственно кислотный гидролизат, панкреатический перевар и пепсинный перевар казеина.

Очистка и обезвреживание препаратов осуществлялись в соответствии с утвержденной технологической документацией, разработанной в Уфимском, Пермском и Московском НИИВСах.

После изготовления препараты хранили в холодильнике при 8—10°.

Антигенную активность (ЕС/мл) и иммуногенность анатоксинов проверяли на белых мышах весом 16—18 г по методикам, регламентированным соответствующими техническими условиями.

Нами изучена стабильность антигенных свойств 16 серий ботулинического анатоксина типа А, 15 — типа В, 15 — типа Е, 10 — типа F, 6 серий столбнячного анатоксина, 12 серий гангренозного анатоксина перфрингенс и 16 серий анатоксина эдематенс. В 5 образцах ботулинического анатоксина типа А, хранившегося в течение 5—6 лет, потери антигенной активности не обнаружено. Из 5 препаратов, хранившихся 4—5 лет, и из 6, хранившихся 2—3 года, лишь в 2 было обнаружено снижение титра. Ботулинические анатоксины типов В, Е и F при 2—6-летнем хранении при 8—10° полностью сохранили первоначальную активность. Столбнячный анатоксин не снижал специфическую активность в течение 1—3 лет наблюдения. Более лабильными при хранении оказались анатоксины перфрингенс и эдематенс. Из 5 препаратов анатоксина перфрингенс, хранившихся в течение 1—2 лет, ни в одном не наблюдалось снижения активности, а из 7, хранившихся в течение 2—3 лет, в 3 антигенная активность снизилась на 22—30%. В 8 из 16 серий анатоксина эдематенс, хранившихся в течение 1—2 лет, имело место снижение специфической активности на 25—66,6%. Какой-либо зависимости снижения антигенной активности от степени очистки препаратов не установлено.

Таким образом, гангренозные анатоксины перфрингенс и эдематенс, приготовленные на казеиновых средах, оказались менее стабильными по сравнению с ботулиническими и при хранении снижали специфическую активность.

Для изучения иммуногенности очищенные препараты сорбировали на гидроксиде алюминия. Полноту сорбции проверяли отсутствием антигена в надосадочной жидкости.

В опыт были взяты по 3 серии каждого препарата с различными сроками хранения. Их иммуногенность сравнивали с первоначальной иммуногенностью после изготовления. Ре-

зультаты исследований показали, что очищенные ботулинические анатоксины типов А, В, Е и F сохраняют иммуногенность в течение 5—6 лет, а гангренозные: перфрингенс, эдематический и столбнячный анатоксины — в течение 1—2 лет (срок хранения).

ГЕЛЬ-ХРОМАТОГРАФИЯ БОТУЛИНИЧЕСКОГО ЧАСТИЧНО ОБЕЗВРЕЖЕННОГО, КОНЦЕНТРИРОВАННОГО ТОКСИНА ТИПА Е НА СЕФАДЕКСЕ Г-200

Л. П. СЫЧЕВА

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

Исследования проведены с целью сравнительного анализа методов очистки на различных этапах технологического процесса. Частично обезвреженный концентрированный токсин, полученный производственным способом, с активностью 50—150 ЕС/мл и удельной активностью 140—370 ЕС/мг белкового азота при хроматографии на сефадексе Г-200 разделился на 3—4 фракции. Биологическая активность белков первой фракции, имеющих молекулярный вес $3,52 \times 10^5$, равнялась 20—100 ЕС/мл. Удельная активность составляла 550—1000 ЕС/мг белкового азота, что в 2—4,5 раза превышало показатели исходного препарата. Изучение концентрированного частично обезвреженного токсина методом диск-электрофореза в полиакриламидном геле показало наличие 8—9 белковых компонентов, различающихся по электрофоретической подвижности и молекулярному весу. Реакцией иммунодиффузии установлено, что из присутствующих компонентов серологической активностью обладали только пять. В первой фракции, получаемой при хроматографии на сефадексе Г-200, присутствовали в основном высокомолекулярные малоподвижные белки, кроме того, были примеси низкомолекулярных компонентов. При высокой удельной активности выявлено несколько белковых компонентов и не менее двух антигенов. Наиболее массивные преципитировали, образуя

две линии. Во второй фракции определены среднемолекулярные вещества, молекулярный вес которых соответствовал белкам с молекулярным весом $\approx 5 \times 10^4 - 7 \times 10^4$. Эта фракция имела антигенную активность (10 ЕС/мл) не во всех опытах. Методом электрофореза в геле акриламида определено наличие высокомолекулярных белков, очевидно, это и обеспечивает в некоторых случаях наличие биологической активности препарата. Иммунодиффузией в агаровом геле выявлено два антигена, соответствующие наиболее массивным среднемолекулярным компонентам. В третьем и четвертом пиках найдены, главным образом, низкомолекулярные белки (м. в. $\approx 2 \times 10^4$ и $\approx 1 \times 10^4$). Диск-электрофоретическим анализом установлено, что они представлены непреципитирующим компонентом, расположенным ближе других к аноду. Биологическая активность фракций (5 ЕС/мл) установлена только в одном опыте.

Таким образом, методами хроматографии на сефадексе Г-200 и диск-электрофореза в полиакриламидном геле установлена гетерогенность ботулинического частично обезвреженного концентрированного токсина. Молекулярный вес биологически активных белков составляет $3,52 \cdot 10^5$. Степень очистки препарата после гель-хроматографии на сефадексе Г-200 достигает 2—4,5 раза.

ИЗУЧЕНИЕ КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА ТОКСИНОВ В ПРОИЗВОДСТВЕ АНАТОКСИНА ЭДЕМАТИЕНС

М. А. КАМЕНЕВА, Н. П. ЕФИМОВА

Пермский ордена Трудового Красного Знамени
научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

Кл. эдематиенс типа А продуцирует сложный токсический комплекс, включающий помимо летального фактора типоспецифические ферменты: гемолизин, лецитиназу, липазу. Под действием формалина ферменты, так же как и летальный фактор, переходят в анаформу (Калиниченко, 1968) и, возможно, сохраняются в препарате в процессе его очистки и

концентрации, о чем свидетельствует идентичность линий иммунопреципитации нативных и очищенных анатоксенов эдематненс (Исполатовская с соавт., 1959; Ненашев с соавт., 1971). Можно предположить, что антигенный спектр анатоксенов эдематненс определяется компонентным составом исходных токсинов.

Так как до настоящего времени отсутствуют данные о количественном содержании отдельных компонентов в нативных токсинах эдематненс, получаемых в производственных условиях, мы сочли целесообразным отнять их фоновое содержание в токсине с целью дальнейшего изучения влияния уровня накопления компонентов на ведение технологического процесса и на свойства готового препарата.

В работе представлены данные компонентного состава токсинов кл. эдематненс типа А (производственные и экспериментальные серии за 1970—1974 гг.) с анализом факторов, определяющих уровень накопления отдельных компонентов. Использованы штаммы А-79, А-277 (производственные) и 4, поддерживаемые на среде Тароци с пептон-пепсиновым бульоном. Основной средой культивирования являлась казеиново-пепсиновая (регламент МРТУ-42, 330-69) и ее модификация с заменой кукурузного экстракта экстрактом кормовых дрожжей (Ефимова с соавт., 1974). Культивирование проводили 4—6 суток при 37° в бутылках и реакторах.

В фильтратах культур определяли летальную (ДЛМ/мл), анитоксинсвязывающую (L^+ /мл), гемолитическую (г/ед.), лецитиназную (LV) и липазную активность (л. ед.). Результаты обработаны статистически (Вознесенский, 1969).

Анализируя данные компонентного состава фильтратов культур кл. эдематненс (свыше 300 серий), приходится констатировать, что при постоянном выявлении летальной и анитоксинсвязывающей активности в пределах 5 000—100 000 ДЛМ/мл и 5—100 L^+ /мл содержание гемолизина колеблется от 0 до 20 000 г/ед., лецитиназы — от 0 до 100 л/ед., липазы — от 0 до 40 л/ед. Следовательно, энзиматическая активность характеризуется большей вариабельностью, чем продукция летального фактора.

Выявлены статистически достоверные различия ($p < 0,001$) в уровне накопления отдельных компонентов токсина на средах разного состава. Присутствие экстракта кормовых дрожжей в среде (3% от объема) способствовало увеличению летальной и анитоксинсвязывающей активности, а также воз-

растанию титров гемолизина и лецитиназы по сравнению с контрольной средой с кукурузным экстрактом.

Из оцененных штаммов наиболее активные токсины, по-
военные по компонентному составу, продуцировал штамм
А-79 ($34\,000 \pm 4\,300$ ДЛМ/мл; 36 ± 5 L⁺/мл; 560 ± 220 г/ед.;
 $6,2 \pm 1,7$ LV; $1,5 \pm 0,5$ л/ед.). Штамм А-277, не уступая по ток-
сигенности штамму А-79, отличался резко сниженной продук-
цией гемолизина (50 ± 13 г/ед.). У штамма 4 отмечен высокий
уровень лецитиназы ($12,2 \pm 2,2$ LV) и липазы ($3,1 \pm 0,7$ л/ед.)
при незначительном накоплении летального фактора ($6\,000 \pm$
 $\pm 2\,600$ ДЛМ/мл).

При попарном сравнении биологической активности фильт-
ратов культур кл. эдематисе А-79, выращенных в реакторах
и бутылках, отмечены существенные различия в уровне накоп-
ления гемолизина ($p < 0,02$) и лецитиназы ($p < 0,01$). Можно
предположить, что повышенный синтез данных ферментов при
культивировании в реакторе вызван непосредственным кон-
тактом возбудителя с металлом.

В эксперименте показана высокая чувствительность синте-
за ферментов к присутствию в среде металлов. Продукцию
гемолизина усиливали ионы кобальта, марганца, железа, ни-
келя и особенно цинка. Лецитиназа активировалась ионами
цинка и кобальта, липаза — ионами кадмия, кальция и цинка.

Вариабельность компонентного состава токсинов эдематисе
может явиться одной из причин нестандартности течения
некоторых технологических процессов. Так, при обезврежива-
нии пативных токсинов согласно регламенту МРТУ-42, 330-69
(формалин 0,4%, рН 6,0—6,5, 2 суток при 37°, 5 суток при
20°) наряду с полным обезвреживанием большинства токси-
нов встречаются серни, длительно сохраняющие остаточную
токсичность в пределах 2—10 ДЛМ/мл.

Экспериментально доказано, что наиболее устойчивой к
воздействию формалина является лецитиназа, что согласуется
с литературными данными (Денисова с соавт., 1955). После
проведения документированной схемы детоксикации актив-
ность лецитиназы снижается только на 30—50%. При высоких
титрах лецитиназы в исходных токсинах (20—100LV) непол-
ное обезвреживание фермента (свыше 10LV) может явиться
причиной сохранения остаточной токсичности.

По нашим данным (анализ 42 производственных серий),
количество токсинов с лецитиназой 20—100LV составляет
примерно 15%. Детоксикация таких токсинов обязательно

должна вестись с учетом особенностей обезвреживания лецитиназы.

С этой целью изучено влияние рН 6,0; 6,5; 7,0; 7,5, концентрации формалина 0,4; 0,7; 0,9 на скорость инактивации лецитиназы при 37°.

Исследования показали, что обезвреживание лецитиназы возрастает с увеличением рН (оптимум рН 7). Переход в щелочную зону не желателен, ибо это может вызвать снижение антитоксисвязывающей активности.

Увеличение концентрации формалина ускоряет детоксикацию только при оптимальных значениях рН. При рН ниже 7 увеличение дозы формалина неэффективно. К тому же с повышением концентрации формалина наблюдается некоторое снижение антитоксисвязывающей активности. Для более полного обезвреживания фермента время выдержки при 37° может быть удлинено до 5—7 суток, антитоксисвязывающая активность при этом не снижается.

При отсутствии лецитиназы в токсинах и при содержании ее не более 5LV удается получать безвредные для мышей анатоксины за 1—2 суток без корригирования рН.

Таким образом, нестандартность компонентного состава токсинов требует дифференцированного подхода к проведению детоксикации и, возможно, других технологических процессов в производстве сорбированного очищенного анатоксина эдематисенс.

ДИНАМИКА ТОКСИЧЕСКОЙ И ФЕРМЕНТНОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ШТАММОВ СТОЛБНЯЧНОЙ ПАЛОЧКИ

В. О. РОЖДЕСТВЕНСКАЯ

Ленинградский научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

Соотношения между токсической и ферментной активностью столбнячной палочки изучены недостаточно. Имеются отдельные указания, что культура продуцирует в среду обитания не только тетаноспазмин, но также гемолизин, протеназу, ДНКазу, желатиназу. В настоящем сообщении пред-

ставлены материалы по сравнительному изучению токсической и ферментной активности 3 штаммов кл. тетани, используемых в производстве столбнячных токсинов-анатоксинов и известных в Советском Союзе как 25, 471 и 473. Поставлено 6 параллельных опытов. Культуры выращивали на среде Рамона при 35° в бутылках емкостью по 4,0 л. Для того, чтобы создать стандартные условия экспериментов, посев каждого штамма производили одновременно на одну и ту же серию среды. Через различные сроки культивирования (от 1 до 10 суток) брали выемки, в которых определяли токсичность (DLM) в опытах на белых мышах и наличие ферментов (лецитиназа, коллагеназа, протейназа, гиалуронидаза, ДНКазы, гемолизин). Лецитиназу определяли по методу И. М. Хастовой (1959); коллагеназу — по растворению проколлагеновой пленки (Страцицкий и др., 1952); протейназу — по створаживанию молока (Ротта, Биков, 1956); гиалуронидазу — в реакции с гиалуроновой кислотой (Могилевский, 1963); ДНКазу — по деполимеризации молекул ДНК (Калиниченко и др., 1968).

Для определения гемолитических свойств в предварительных опытах изучили чувствительность 1, 2 и 5%-ных эритроцитов лошади, человека, барана и кролика к столбнячному гемолизину. Стабильные результаты получали при использовании 2%-ных эритроцитов лошади, которыми и пользовались в дальнейшей работе.

Установлено, что токсиногенез неодинаков и зависит как от штамма, так и от сроков культивирования. Максимальное содержание тетаноспазмина отмечается на 6—7-е сутки, после чего происходит снижение активности препарата.

Все штаммы продуцировали гемолизин и протейназу, начиная со 2—3 суток выращивания. Лецитиназа выявлялась непостоянно и только в начальные сроки выращивания у кл. тетани 473 и 471, ни в одном случае не удалось ее определить в фильтрах после посева кл. тетани 25.

Гиалуронидаза продуцировалась регулярно в небольших количествах штаммом 25, непостоянно штаммом 471 и лишь в одной серии на 3-и сутки выявлены следы этого фермента при культивировании кл. тетани 473. Коллагеназа и ДНКазы отсутствовали.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ
ПРОИЗВОДСТВЕННОГО ШТАММА 471 ВОЗБУДИТЕЛЯ
СТОЛБНЯКА В ДИНАМИКЕ РАЗВИТИЯ ПОПУЛЯЦИИ
(ВОЗМОЖНОСТЬ СТИМУЛИРОВАНИЯ
ТОКСИНОГЕНЕЗА И СПОРООБРАЗОВАНИЯ)

В. П. КОРОВИНА, Е. В. ЧИКИШЕВ, Л. А. САЗОНОВА,
И. Ш. ВАЙСМАН

Пермский ордена Трудового Красного Знамени
научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

Биологические особенности производственного штамма 471 изучены недостаточно. Нами проведено комплексное исследование с целью уточнения динамики численности его популяций, времени появления, динамики накопления и длительности сохранения токена в культуральной среде, а также влияния метаболитов, которые вырабатываются в ходе развития культур, на развитие популяции, токсиногенез и спорообразование. Опыты и контрольные исследования были поставлены в лабораторных условиях при выращивании культур в анаэробе с остаточным давлением 10 мм рт. ст. и температуре $+34^{\circ}$ в стекле, а также в условиях производства в реакторах с объемом среды 100 л. Одновременно в последовательно взятых пробах культур исследовали морфологию бактериальных клеток бактериоскопией живых в фазово-контрастном микроскопе, а также фиксированных микроорганизмов на окрашенных мазках. Электронно-микроскопические исследования проводили на ультратонких срезах, а также после низкотемпературной фиксации с разломом и травлением, на репликах микробных взвесей.

Подтверждена известная последовательность смены фаз роста культур по данным их развития в среде 4. При дозах инокулума, соответствующих исходной концентрации 5,2—10,9 млн./мл, экспоненциальный рост численности популяции начинается через 6—10 часов после засева. Через 15—16 часов наблюдается переход в стационарную фазу, которая длится до 56 часов, после чего начинается постепенное снижение численности с отмиранием культур. Многочисленные повторные определения показали, что в течение стационарной фазы

роста численность популяции может неравномерно колебаться в сторону, главным образом, повышения, а также снижения примерно на 20 млн. микробных тел в 1 мл в среднем: кривые, отражающие численность популяций в ходе стационарной фазы, отличаются волнообразным ходом.

По данным титрации на белых мышах, токсин появляется в культуральной среде в концентрации от 100000 ДЛМ/мл не ранее 2 суток развития культур, достигает максимальных концентраций на 5—6-е сутки, как правило, ко времени снижения численности популяции за счет массовой ускоренной гибели микробных клеток. Как и в отношении других анаэробных патогенных кластридий, эти данные не согласуются с мнением, что токсин, вырабатываемый ими, относится к строгим экзотоксинам. По-видимому, определенные компоненты токсина или биологические активные вещества, необходимые для его созревания, выделяются из микробных клеток только после лизиса и выхода их содержимого через структуры оболочек. С 7 суток культивирования концентрация токсина начинает снижаться, вероятно, как следствие химической деградации его активных компонентов.

Предыдущие исследования лаборатории (Сазонова, Вайсман, 1973; Коровина, Сазонова, Вайсман, 1974 и др.) показали, что прекращение роста численности популяций производственных штаммов возбудителей газовой гангрены происходит при наличии в среде достаточных источников питания и энергетических субстратов. Причиной служат эндогенные метаболиты ингибирующего действия, активность которых проявляется при достижении популяцией критически высокого для данного объема среды уровня численности (Шварц, 1972 и др.).

Данные наших экспериментов свидетельствуют, что аналогичная ситуация возникает и в культурах возбудителя столбняка. Есть основание полагать, что эти же метаболиты обуславливают переход от экспоненциального роста численности в стационарную фазу развития культур. Метаболиты-ингибиторы сохраняют активность в фильтрах среды, на которых культуры штамма 471 выращивали как до стационарной фазы, так и до фазы ускоренной гибели.

При росте в фильтрах любого из двух сроков подавляется рост численности микроорганизмов. Наряду с этим в отличие от роста тех же культур в свежей казенной жидкой пи-

тательной среде наблюдается интенсивное спорообразование. Число спор превышает число вегетативных клеток в первом фильтрате в 2—3, во втором — 4—7 раз. В дальнейшем относительное и абсолютное содержание вегетативных клеток в популяции возрастает, в том числе и за счет прорастания значительной части спор. При пересеве спор на свежую среду качественные и количественные показатели развития популяций практически не отличаются от контрольных без существенного спорообразования.

Добавление второго фильтрата в самом начале их экспоненциального роста к культурам, растущим в реакторах емкостью до 100 л, до конечной концентрации 1%, по сравнению с контролем, сопровождается увеличением численности микроорганизмов на высоте экспоненциального роста примерно на 25%, выработки токена в 1,3, активности его в анитоксинсвязывающих единицах до 1,6 раза.

Исследования по определению оптимальных условий стимуляции проявления полезных в производстве биологических свойств возбудителя столбняка, а также выяснению химического состава биологически активных веществ, обладающих таким действием, продолжаются.

В теоретическом плане известный интерес представляет способность эндогенных метаболитов в фильтратах культур, изученных микроорганизмов стимулировать спорообразование.

ИТОГИ ПОЛУЧЕНИЯ И ИЗУЧЕНИЯ ХИМИЧЕСКОЙ СОРБИРОВАННОЙ БРЮШНОТИФОЗНОЙ ВАКЦИНЫ С СЕКСТАНАТОКСИНОМ

И. П. ВАСИЛЬЕВА

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцин и сывороток

Начало производства химической сорбированной брюшнотифозной вакцины с секстанатоксином в Томском НИИ вакцин и сывороток относится к 1971 г.

За последние годы девятой пятилетки предприятие полностью обеспечивало себя ботулиническими и гангренозными анатоксинами.

Исследования 1971—1975 гг. были направлены, главным образом, на изучение ботулинических компонентов и иммунобиологическую реактивность организма при введении вакцины (Васильева, Явья, Ермаков, Сычева, Немирович-Данченко, Новосельцева, Некрашевич, Ретник, Осипова).

Так были проведены наблюдения за токсинообразованием кл. ботулиnum типов А, В, Е в зависимости от физико-химических свойств различных питательных сред, изменением азотистого состава сред при посевах кл. ботулиnum типов А и В. Выяснялся также процесс токсинообразования у кл. ботулиnum типа Е при диализном способе культивирования в условиях постоянного обновления питательной среды. В сравнительных опытах по очистке концентрированного ботулинического токсина-анатоксина типа Е были использованы методы ионообменной хроматографии на ДЭАЭ-целлюлозе, гель-хроматографии на сефадексе Г-200, диск-электрофорез в полиакриламидном геле.

Иммунохимическое изучение ботулинического протоксина, токсина, анатоксина типа Е, полученных производственным способом и диализным методом, позволило определить молекулярный вес, равный $3,52 \cdot 10^5$. Содержание антигенных комплексов бактериального происхождения было в 2 раза выше у концентрированного токсина, полученного диализным методом.

Наблюдение за реактогенностью и иммунологической эффективностью ассоциированного препарата показало, что реакции организма на введение вакцины с уменьшенной дозировкой были слабее, чем при иммунизации полной дозой. При уменьшении уменьшенной дозы вакцины (кроме брюшнотифозного антигена) обеспечивало у привитых людей защитные титры ко всем компонентам.

Вакцинация животных вызывала определенные изменения неспецифических реакций организма без патологических отклонений от норм. В эксперименте было установлено, что наибольшей реактогенностью обладали брюшнотифозный антиген и анатоксин перфрингенс.

Проведенные исследования позволили усилить удельную активность ботулинических анатоксинов типов А, В, Е и увеличить выход прививочных доз с 1 л питательной среды в 1975 г. в 2—3 раза по сравнению с 1971 г.

ОПЫТ ИЗГОТОВЛЕНИЯ СУХОЙ СОРБИРОВАННОЙ БРЮШНОТИФОЗНОЙ ВАКЦИНЫ С СЕКСТАНАТОКСИНОМ

Ю. А. ШАРОНОВ, В. Н. МЕЛЬНИКОВ, В. Ш. ФОКИНА,
В. Я. ЯКОВЛЕВА

Уфимский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток
им. И. И. Мечникова

За последнее время метод лиофильного высушивания находит все более широкое применение в вакцино-сывороточном производстве. Особый интерес представляет лиофилизация сорбированных препаратов, которые после высушивания становятся устойчивыми к замораживанию, удобными при транспортировке и хранении и, будучи более стабильными, имеют продолжительный срок годности.

В настоящей работе для лиофильной сушки использовались приготовленные в Уфимском НИИВСе серии сорбированной брюшнотифозной химической вакцины с секстанатоксином, содержащие в прививочной дозе (1 мл) 0,2 мг брюшнотифозного антигена, 15 ЕС — ботулинического анатоксина типа А, по 3 ЕС — анатоксинов типов В и Е, по 5 ЕС — анатоксинов столбнячного и эдематенес и 30 ЕС — анатоксина перфрингенса. Перед высушиванием надосадочную жидкость исходных препаратов декантировали до половины объема и замещали ее равным объемом защитной среды высушивания, в качестве которой были изучены 10 и 16% -ные растворы сахарозы, 10% -ный раствор сахарозы с 0,4% аскорбиновой кислоты или 1% желатины. Предварительное замораживание разлитой по ампулам вакцины производилось либо в холодильной камере при -30 и -65° , либо в замораживающей ванне с охлажденными до -50 — -55° этанолом или фреоном-30. Лиофилизация препаратов на сушильно-сублимационной установке фирмы «Брозио» продолжалась в течение 48—50 часов. После высушивания проводили изучение физических свойств, полноты сорбции и иммуногенности всех компонентов сухих вакцин.

Было установлено, что растворимость и гомогенность сухих препаратов зависят от скорости замораживания вакцины

перед сушкой. Если последнее происходило недостаточно быстро, наблюдалось расслоение сухой таблетки, плохая ее растворимость и плохая гомогенность растворенной вакцины. Напротив, при быстром замораживании путем погружения ампул с вакциной в охлажденные до $-50-55^{\circ}$ этанол или фреон-30 лиофильно высушенные препараты хорошо растворялись и сохраняли гомогенность. Из испытанных в работе защитных сред высушивания лучшие результаты были получены при использовании 16%-ного раствора сахарозы.

По отработанному режиму лиофилизации был приготовлен ряд серий сухой сорбированной вакцины с секстаанатоксином. Сухие препараты имели остаточную влажность от 1,8 до 3,9%, легко растворялись в исходном объеме дистиллированной воды и после растворения были гомогенными. В надосадочной жидкости сухих вакцин сохранялась исходная полнота сорбции всех антигенов. Изучение иммуногенных свойств сухих, а также и жидких вакцин до высушивания проводили в опытах на белых мышах по принятой для каждого компонента методике. Исследования показали, что в процессе лиофильного высушивания обеспечивается сохранение иммуногенности всех компонентов ассоциированных вакцин. Все изготовленные серии сухих препаратов были достаточно иммуногенными: анатоксинные компоненты предохраняли от гибели от 71,2 до 88,6% иммунизированных животных, а величина ED_{50} брюшнотифозного антигена испытываемых препаратов во всех случаях была меньше, чем ED_{50} стандарта иммуногенности брюшнотифозного антигена (коэффициент K — меньше единицы).

Сухая сорбированная вакцина с секстаанатоксином была испытана для прививки людей. Для этой цели двумя сериями сухих препаратов после проверки их по всем тестам в лаборатории и в ОБК было привито 20 добровольцев. Прививки проводили двукратно с месячным интервалом, через 6 месяцев привитых ревакцинировали.

Через 24 часа после введения препаратов у 19 привитых из 20 были обнаружены слабые местные и общие реакции (до $37,5^{\circ}$) и только у одного человека повышение температуры до $37,6^{\circ}$. Таким образом, испытанные серии сухой вакцины не обладали повышенной реактогенностью.

Содержание антитоксинов в сыворотке привитых после двукратной прививки колебалось от 0,075 до 3 и более МЕ/мл (столбнячного). После ревакцинации средние титры

антитоксинов были значительно выше: перфрингенис — 0,12, эдематенис — 1,35, ботулинических типа В — 1,02, типа Е — 1,03, типа А — 3,0 и столбнячного — больше 10 МЕ/мл. Содержание антитоксинов во всех испытанных сыворотках было выше условно защитного уровня.

С целью изучения стабильности иммуногенных свойств сухой вакцины с секстаанатоксином иммуногенность препаратов проверяли через 1,5, 2 и 2,5 года хранения при $+6-8^{\circ}$. Изученные в этих опытах 4 серии сухих комплексных вакцины сохранили исходную иммуногенность всех антигенов. Анатоксинные компоненты сухих препаратов, хранившихся в течение 2,5 лет, обеспечивали выживаемость 60—86,5% иммунизированных белых мышей после введения им токсинов, а величина ED_{50} брюшнотифозного компонента была меньше, чем ED_{50} стандарта иммуногенности (ср. геометрическая коэффициент $K = 0,42$).

ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ И СВОЙСТВ СУХОЙ СОРБИРОВАННОЙ ХИМИЧЕСКОЙ БРЮШНОТИФОЗНОЙ ВАКЦИНЫ С СЕКСТААНАТОКСИНОМ В ПРОЦЕССЕ ХРАНЕНИЯ

А. И. СЕЛЕЗНЕВА

Пермский ордена Трудового Красного Знамени
научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

Лиофилизация моновакцин и ассоциированных препаратов является, по существу, универсальным методом, обеспечивающим высокий эффект стабилизации специфических биологических свойств препаратов и их физического состояния (после регидратации)

В связи с этим целесообразным явилось получение сухой химической сорбированной брюшнотифозной вакцины с секстаанатоксином и изучение ее свойств непосредственно после лиофилизации, через 1—2—3—4 года и при хранении в «неблагоприятных» условиях ($+20-37^{\circ}$).

Проведенные исследования свидетельствуют о высокой стабильности сухого комплексного препарата и сохранении

физических и иммуногенных свойств при длительном хранении. Иммуногенные свойства всех компонентов в процессе 4 лет хранения при $+5^{\circ}$ (срок наблюдения) и в течение года при $+37^{\circ}$ были равноценны исходным.

Иммунологическую эффективность сухой вакцины после года хранения при $+37^{\circ}$ мы оценивали по уровню антител в сыворотках иммунных кроликов. Кроликам вводили сухой комплексный препарат по 1 мл подкожно с интервалом 30 дней. Кровь брали из краевой вены уха кролика после 2-й иммунизации на 15-й день.

Средние титры антитоксинов в сыворотках привитых кроликов составили: столбнячный — 3,0, эдематичес и перфрингенс — 1,5; ботулинический типа А — 0,9; В — 0,2; типа Е — 1,7 МЕ/мл.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ХИМИЧЕСКОЙ БРЮШНОТИФОЗНОЙ ПЕРЕКИСНОЙ ВАКЦИНЫ С СЕКСТАНАТОКСИНОМ

Г. И. КАРПУХИН, Р. А. АНДРИЕВСКАЯ, Э. Г. ЛУКЬЯНОВА,
Н. И. ШАПИРО, И. Д. ШПАЦ, И. П. ВАСИЛЬЕВА,
Г. Ф. ЕРМАКОВ, Е. Г. ОСИПОВА

Ленинградский научно-исследовательский институт вакцины и сывороток
Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский
институт вакцины и сывороток

С 1970 г. в противоэпидемической практике используется ассоциированный препарат для профилактики брюшного тифа и ряда анаэробных инфекций. Химическая сорбированная вакцина включает 0,2 мг брюшнотифозного триптического антигена и тетра- или секстаанатоксин. Изучение этих комплексных препаратов показало их выраженную иммунологическую эффективность (Лесняк и др., 1970; Христов и др., 1970; Васильева, Ермаков, 1972). При оценке реактогенных свойств комплексных препаратов в ряде случаев была установлена относительно повышенная их реактогенность, а в единичных случаях сопровождающаяся тяжелыми осложнениями (Озерецковский и др., 1970; Вульфсон и др., 1972).

С целью снижения реактогенности комплексных препаратов нами была предпринята попытка конструирования новой химической брюшнотифозной перекисной вакцины с секстаанатоксином. В качестве брюшнотифозного компонента был использован перекисный брюшнотифозный антиген, приготовленный по разработанному в Ленинградском НИИВСе методу щадящей экстракции поверхностных протективных антигенов сочетанным воздействием на культуры вакцинных штаммов возбудителя перекиси водорода и формалина в заданных условиях (Шапиро и соавт., 1971, 1974). Антигенные препараты, приготовленные щадящим методом, были в 3—5 раз менее токсичны, чем триптические производственные антигены (Андриевская и др., 1972). Проведенное нами ранее изучение перекисной брюшнотифозной моновакцины и перекисной тифо-паратифозно В-столбнячной вакцины выявило значительно пониженную реактогенность и наименьшую алергизирующую активность этих вакцин в сравнении с контрольными триптическими вакцинами, а также накопление в сыворотках привитых О-, Ви- и Н-антител, тогда как триптические вакцины не индуцировали Н-антителообразования (Андриевская и др., 1975; Лукьянова, 1975). Выявленные преимущества перекисного брюшнотифозного антигена в сравнении с триптическим позволили предпринять попытку создания комплексного препарата химической сорбированной брюшнотифозной перекисной вакцины с секстаанатоксином. Вакцина была приготовлена в Томском НИИВСе (Васильева с соавт.) из перекисного брюшнотифозного антигена (сер. 137) с секстаанатоксином. Контролем служила химическая сорбированная брюшнотифозная триптическая вакцина с секстаанатоксином (сер. 42).

Антигенные препараты и вакцины характеризовались по токсичности (LD_{50}) для белых мышей, иммуногенной активности в тесте активной защиты мышей (ED_{50}), безвредности на морских свинках и мышах, антигенным свойствам (титры антител в крови иммунизированных кроликов) и алергической активности на модели гиперергической воспалительной реакции по Шварцману у кроликов. Антитела к брюшнотифозному антигену определяли в реакции агглютинации с О- и Н-антигенами и в реакции пассивной гемагглютинации с Ви-антигеном.

Анализ изученного материала свидетельствует о наличии существенных различий между перекисным и триптическим

препаратами. Триптический (производственный) антиген был более токсичен (LD_{50} 0,2 мг), чем перекисный (LD_{50} 0,55 мг). По иммуногенной активности перекисная ассоциированная вакцина несколько превосходила триптическую брюшнотифозную комплексную вакцину (ED_{50} 0,65 и 3,22 мкг соответственно). При изучении антигенных свойств обнаружена способность обоих препаратов индуцировать накопление О- и Вн-антител, однако брюшнотифозная перекисная вакцина с полнанатоксинами активно стимулировала образование Н-антител, тогда как коммерческая (контрольная) вакцина не вызывала Н-антителообразования. Обе вакцины были безвредны. При изучении аллергенных свойств выявлены преимущества перекисного комплексного препарата.

Проведенные исследования свидетельствуют о преимуществе брюшнотифозной перекисной вакцины с секетаанатоксином в сравнении с триптическим препаратом и о возможности изучения ее реактогенных свойств и иммунологической активности на ограниченной группе добровольцев.

ИЗУЧЕНИЕ БЕЗВРЕДНОСТИ И ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТИФОЗНО-БОТУЛИНИЧЕСКОЙ А, В, Е-ТЕТРАВАКЦИНЫ, СОДЕРЖАЩЕЙ РАЗЛИЧНЫЕ СОРБЕНТЫ

Л. А. ДИДЕНКО

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

В данном сообщении приводятся результаты сравнительного изучения безвредности и иммунологической эффективности тифозно-ботулинической А, В, Е-тетравакцины, сорбированной на полисахаридной суспензии и гидроокиси алюминия. Готовые препараты содержали 60 ЕС ботулинического анатоксина типа А, 12 ЕС типов В и Е, 0,2 мг брюшнотифозного антигена и 4 мг сорбента в 1 мл препарата.

Контроль безвредности сорбированной тетравакцины проводился на морских свинках весом 300—400 г. Животному вводили подкожно по 2,5 мл препарата в область каждого

бока. Прививочная доза (5 мл) содержала 300 ЕС анатоксина типа А, по 60 ЕС типов В и Е.

Изучение безвредности сорбированных препаратов показало, что общее состояние всех подопытных животных оставалось удовлетворительным, морские свинки прибывали в весе. Местная реакция организма на подкожное введение тетравакцины, содержащей полисахаридный сорбент, была менее выражена, чем при введении препарата, сорбированного на гидроксиде алюминия. Размер инфильтрата на 14-е сутки после инъекции вакцины, приготовленной на целлюлозном сорбенте, составил 0,6x0,6 см, на гидроксиде алюминия — 2,0x0,8 см.

Иммуногенность препаратов проверяли на белых мышах весом 16—18 г. Прививочная доза вакцины (0,5 мл) содержала 6 ЕС ботулинического анатоксина типа А; 2,4 ЕС — типа В, 1,2 ЕС — типа Е. Через 16 суток после иммунизации животным вводили токсины (25 DLM токسينа А и Е, 50 DLM токسينа В). Выживаемость мышей после иммунизации препаратом с полисахаридным сорбентом составила по типу А — 75%, типу В — 88%, типу Е — 60%. Введение вакцины на минеральном сорбенте предохраняло от гибели соответственно — 66, 90, 61% животных.

Иммуногенные свойства брюшнотифозного компонента вакцины определяли в опытах активной защиты мышей (ЕД₅₀) в сравнении с химической брюшнотифозной референс-вакциной ГНИИСК им. Л. А. Тарасевича. Эффективная иммунизирующая доза препарата, содержащего полисахаридный сорбент, составила 0,1500 мг, имеющего гидроксид алюминия — 0,3962 мг.

Иммунологическую эффективность сорбированных препаратов оценивали по уровню антител в сыворотках привитых кроликов на 14, 30, 60-е сутки после 2-й вакцинации. Животных иммунизировали тифозно-ботулинической тетравакциной двукратно подкожно по 0,5 мл с интервалом в 20 дней. Средний титр ботулинического анитоксина типа А для животных, иммунизированных препаратом, содержащим полисахаридный сорбент, составлял 0,60 МЕ/мл, гидроксид алюминия — 0,57 МЕ/мл, типа В соответственно — 0,42, 0,41 МЕ/мл, типа Е — 2,05, 2,26 МЕ/мл.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о безвредности и иммунологической эффективности тифозно-ботулинической А, В, Е-тетравакцины, содержащей полисахаридный сорбент.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ СУХИХ НЕСОРБИРОВАННЫХ АНАТОКСИНОВ ПРИ РАЗНЫХ МЕТОДАХ ВАКЦИНАЦИИ

Н. Б. ЕГОРОВА, И. В. МИРОШНИЧЕНКО, В. Н. ЕФРЕМОВА,
М. А. ГЛАДУС, А. И. СЕРДЦЕВ, Н. И. ТАРАБАРОВА

Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток
им. Н. И. Мечникова, Москва

Сорбированные моно- и ассоциированные анатоксины характеризуются высокой иммунологической эффективностью при подкожном и внутримышечном введении шприцем или инъектором. Следует, однако, иметь в виду, что введение сорбированных препаратов, особенно многокомпонентных ассоциированных вакцин, сопровождается развитием довольно значительной общей и местной реакции.

Это побуждает исследователей к поискам средств и методов снижения реактогенности таких вакцин. Исследования ведутся в различных направлениях: усовершенствование самих анатоксинов, снижение доз, уменьшение в составе вакцин различных добавок, изыскание облегченных методов введения. Использование облегченных методов (аэрозольный, энтеральный и др.) сопряжено с разработкой технологии получения высококонцентрированных стабильных препаратов. Проводя в течение ряда лет исследования в этом направлении, мы разработали технологию получения сухих несорбированных высококонцентрированных моно- и ассоциированных анатоксинов, характеризующихся высокой стабильностью при различных условиях хранения.

В настоящем исследовании мы приводим данные, полученные при испытании эффективности сухих несорбированных концентрированных анатоксинов в условиях иммунизации и ревакцинации. Эффективность сухих несорбированных препаратов сравнивали с эффективностью сорбированных препаратов аналогичного состава. Изучаемые вакцины содержали различное количество анатоксинов (3—6) в смеси с брюшно-тифозным антигеном и стабилизирующими веществами. Все препараты аэрозольно испытаны в сухом виде. Распыление сухой вакцины при массовой аэрозольной иммунизации осуществляли прибором ПАВ-65. Индивидуальную аэрозольную

вакцинацию проводили специально сконструированным для этой цели прибором. Внутримышечное введение препарата осуществляли с помощью инъектора БИ-2. Сухую вакцину для этого регидратировали физиологическим раствором и вводили в объеме 0,5 мл.

Все анатоксины при испытанных методах введения обеспечили существенные иммунологические сдвиги. Введение несорбированных анатоксинов инъектором оказалось эффективным при иммунизации теми же дозами, которые рекомендованы для сорбированных препаратов. Так, при ревакцинации 5 ЕС несорбированного анатоксина средний титр составил 3,2 (2—5) МЕ/мл, а у ревакцинированных той же дозой сорбированного препарата — 3,6 (2,3—5,6) МЕ/мл. Аналогичные данные получены со столбнячным анатоксином, в соответствующих группах средний титр составлял 9,5 (6,3—13,2) и 4,8 (3,5—6,5) МЕ/мл.

Такой же уровень иммунитета обеспечивал аэрозольный метод иммунизации, однако для его достижения потребовались существенно большие дозы. После массовой аэрозольной ревакцинации столбнячным анатоксином в дозе 20 ЕС в крови было 4,5 (2,6—7,6) МЕ/мл, т. е. примерно столько же, как после введения инъектором 5 ЕС сорбированного анатоксина. При индивидуальном методе в крови у людей после ревакцинации титр анитоксина достигал 8,0 (2,4—2,6) МЕ/мл. Эта закономерность сохраняется и для других анатоксинов.

Анализ представленных материалов свидетельствует о том, что полученные по разработанной технологии сухие несорбированные анатоксины могут быть использованы различными методами (игольный, инъекторный, аэрозольный — массовый и индивидуальный), что свидетельствует о возможности их универсального использования.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ АССОЦИИРОВАННОЙ И КОМПЛЕКСНОЙ ИММУНИЗАЦИИ ПРОТИВ ВИРУСНЫХ И БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Б. В. НОВОКРЕЩЕНОВ

Иркутский институт эпидемиологии и микробиологии

Проблема ассоциированной вакцинации с каждым годом получает дальнейшее развитие, создаются разнообразные препараты, обеспечивающие полноценный иммунологический эффект и в то же время лишенных недостатков моноантигенов. Широко комплексуются препараты против вирусных и бактериальных инфекций.

В настоящем сообщении представлены результаты исследования иммунологической эффективности ряда ассоциированных препаратов против бактериальных и вирусных инфекций, а также аллергической реактивности организма при их введении.

Изучали сочетания дифтерийно-коклюшно-столбнячных препаратов, в частности, вакцины КД, КДС, АКДС с вакцинами против кори, полиомиелита, оспы, гриппа, туберкулеза и др. Исследовали также иммунологическую и аллергическую реактивность организма при введении дифтерийно-коклюшно-столбнячных препаратов на фоне иммунизации антирабической вакциной. В ряде экспериментов с целью получения сравнительных данных проводили последовательную иммунизацию рядом изучаемых антигенов с варьированием интервалов между их введениями. В подавляющем большинстве случаев выявлена высокая иммунологическая эффективность изученных ассоциированных препаратов, не уступающая таковой при введении моноантигенов. Однако в ряде случаев отмечено преимущество последовательной иммунизации в сравнении с ассоциированной. Проведенные исследования не показали принципиальной разницы в иммуногенезе при введении вакцины БЦЖ и АКДС в сравнении с их раздельным введением, хотя при сочетании вакцины с дифтерийным анатоксином на некоторых этапах вакцинального процесса на-

блюдалось повышение титров дифтерийного антитоксина, а при сочетании вакцины БЦЖ со столбнячным анатоксином — падение титров столбнячного антитоксина. Противокклюшные агглютинины показали одинаковую динамику и высоту титров при любых сочетаниях испытываемых препаратов (БЦЖ совместно с АКДС, БЦЖ — с коклюшной моновакциной).

Установлено отсутствие влияния оспенной вакцины на динамику противостолбнячного и противодифтерийного иммунитета. Правда, после трехкратной вакцинации и ревакцинации вакциной АКДС с присоединением к ней оспенной вакцины, независимо от времени введения ассоциации происходит некоторое незначительное угнетение противокклюшных агглютининов.

При изучении различных ассоциаций гриппозной вакцины с дифтерийно-коклюшно-столбнячным препаратом на некоторых этапах вакцинального процесса отмечается угнетение дифтерийного и столбнячного антитоксина. Правда, при сочетании гриппозной и АКДС вакцин отмечается некоторая стимуляция столбнячного антитоксина после трехкратной вакцинации, после ревакцинации этого не наблюдается. При применении сочетания вакцины КДС с гриппозной и после ревакцинации отмечена стимуляция образования столбнячного антитоксина.

Под влиянием коревой вакцины иммунологическая эффективность дифтерийного компонента несколько снижается, а столбнячного остается без изменений. Однако при сочетании коревой вакцины с дифтерийным анатоксином и вакциной КД происходит некоторая стимуляция дифтерийного антитоксина, а при сочетании коревой вакцины со столбнячным анатоксином — стимуляция столбнячного антитоксина.

Коревая вакцина вызвала также понижение эффективности коклюшного компонента АКДС как при сочетании ее с моноантигенами, так и дифтерийно-коклюшно-столбнячными препаратами.

В последние годы серьезной разработке подвергнута проблема вакцинации против природно-очаговых инфекций. Некоторые исследователи сочетали вакцины как бактериальные, так и вирусные против природно-очаговых инфекций с рядом вакцин против кишечных, капельных и раневых инфекций (Беляков, Ильиченко, 1958; Головацкая, 1961; Аксененко с соавт., 1970, 1972 и др.). По-видимому, такое направление ра-

бот является очень перспективным, ибо в зависимости от эпидемиологической ситуации в местностях, неблагополучных по природно-очаговым инфекциям, приходится помимо регламентированных против них прививок проводить и циклы иммунизации против инфекций, эндемичных для данного региона и распространенных повсеместно. В связи с этим в поле зрения в аспекте иммунологического взаимодействия с вакцинами против природно-очаговых инфекций должен возникнуть такой распространенный препарат, как АКДС.

В настоящем сообщении приводятся данные применения ассоциированных препаратов против дифтерии, столбняка, коклюша и клещевого энцефалита. Вакцина против клещевого энцефалита при присоединении ее почти ко всем препаратам с включением дифтерийного анатоксина резко стимулирует образование дифтерийного антитоксина. Эффективность столбнячного компонента вакцины АКДС под влиянием вакцины против клещевого энцефалита не изменялась, а коклюшного — падала после трехкратной вакцинации и не изменялась после ревакцинации.

Во всех проведенных исследованиях по изучению ассоциированных препаратов против дифтерии, коклюша и столбняка и вирусных инфекций напряженность противовирусного иммунитета не изменялась в сравнении с применением моновакцины. Проведенные совместно с Никесловой исследования по изучению одновременной вакцинации против клещевого энцефалита и лептоспироза показали иммунологическую эффективность этого препарата.

В сообщении также представлены данные об аллергической активности изученных бактериально-вирусных ассоциированных препаратов.

ИЗУЧЕНИЕ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ВИРУСНЕЙТРАЛИЗУЮЩИХ СВОЙСТВ ГАММА-ГЛОБУЛИНА ПРОТИВ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА И FAV-ФРАГМЕНТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ НЕГО МЕТОДОМ ТЕПЛОВОЙ ОБРАБОТКИ

П. С. БАРБАН, В. М. МИНАЕВА, А. Н. ПАНТЮХИНА,
М. Г. СТАРЦЕВА

Пермский ордена Трудового Красного Знамени
научно-исследовательский институт вакцин и сывороток

Современная прикладная иммунология располагает целым рядом эффективных сывороточных препаратов для серотерапии и серопротекции инфекционных заболеваний.

Однако использование таких препаратов ограничено ввиду их высокой реактогенности (анафилактогенности), которая, очевидно, прямым образом коррелирует с глубиной очистки исходной иммунной сыворотки от балластных белков. Результаты применения классического метода Днаферм-3 для очистки гетерогенных сывороток антивирусного действия и, в частности, противозенцефалитного гамма-глобулина носят, судя по доступной литературе, противоречивый характер. По данным одних авторов, пепсинолиз антивирусных сывороток приводит к инаktivации их специфических свойств (Анджанапидзе, Дурасова с соавт., 1955; Гайдамакова, Дромашко, Мухина, 1968). В то же время томскими исследователями (Прегер, 1963; Карпов, Федоров, 1968) было показано, что очищенная и сконцентрированная по методу Днаферм гипериммунная лошадиная сыворотка против клещевого энцефалита сохраняла свою вируснейтрализующую активность и отличалась пониженной реактогенностью.

Успехи современной иммунохимии, достигнутые в области изучения структуры иммуноглобулинов, позволяют наметить иной методический подход к приготовлению сывороточных биопрепаратов. Он заключается в получении моновалентных Fab-фрагментов антител путем ферментативного расщепления белков гамма-глобулиновой фракции иммунной сыворотки с помощью папаина. При этом представлялось вероятным, что полученные таким образом Fab-фрагменты, сохранив свою

специфическую активность, окажутся менее реактогенными, чем специфический гамма-глобулин. Это предположение нашло свое экспериментальное подтверждение в ранее проведенных исследованиях.

В них было показано, что гамма-глобулин против клещевого энцефалита может быть дезинтегрирован с помощью панаина до моновалентных Fab-фрагментов, сохраняющих серологическую и вируснейтрализующую активность, уровень которой сопоставим с уровнем серологической и вируснейтрализующей активности гамма-глобулина.

При изучении реактогенности (анафилактогенных свойств) против энцефалитного гамма-глобулина и Fab-фрагментов, выделенных из него методом гель-фильтрации, было показано, что Fab-фрагменты обладали в четыре раза меньшей реактогенностью, чем гамма-глобулин.

Однако известная сложность приготовления Fab-фрагментов, связанная с использованием гель-хроматографии на сефадексе Г-100, применительно к условиям промышленного производства побудила нас к поискам более простого метода получения Fab-фрагментов.

В настоящем сообщении излагаются результаты сравнительного изучения серологической и вируснейтрализующей активности гамма-глобулина против клещевого энцефалита и Fab-фрагментов, выделенных из него методом тепловой обработки. Серологическую активность изучали в реакции связывания компонента (РСК), реакции угнетения связывания компонента (РУСК), реакции торможения гемагглютинации (РТГА). РСК и РТГА ставили и учитывали по общепринятым методикам. Для выявления Fab-фрагментов использовали РУСК в модификации Райс (1948). Вируснейтрализующую активность гамма-глобулина против клещевого энцефалита и выделенных из него Fab-фрагментов изучали параллельно в реакции биологической нейтрализации (РБН) на белых беспородных мышях, которую ставили и учитывали по общепринятой методике.

В качестве эталонного штамма вируса клещевого энцефалита использовали штамм Абсеттаров.

Результаты проведенных исследований подвергали статистической обработке.

Первоначально в сопоставимых опытах была исследована серологическая активность исходного неферментированного гамма-глобулина против клещевого энцефалита и полученных

из него методом тепловой обработки Fab-фрагментов. При этом было установлено, что гамма-глобулин против клещевого энцефалита достаточно активно участвовал в РСК (титр комплементсвязывающих антител 1:256) и совершенно не реагировал в РУСК, а Fab-фрагменты, уравновешенные по белку с гамма-глобулином, совершенно не реагировали в РСК, но сохраняли специфическую активность в РУСК в титре 1:256.

Несколько отличные результаты были получены при изучении серологической активности гамма-глобулина и Fab-фрагментов в РТГА. Было отмечено, что активность Fab-фрагментов в этой серологической реакции была на 1—2 разведения ниже таковой гамма-глобулина.

Однако наибольший интерес представляет результат изучения Fab-фрагментов и гамма-глобулина в РБН. Сравнение вируснейтрализующей активности показало, что Fab-фрагменты обладают нейтрализующей активностью, которая в известной степени пропорциональна концентрации белка в препарате. Средняя величина логарифма индекса нейтрализации Fab-фрагментов составила $3,08 \pm 0,38$ и $4,81 \pm 0,27$ для гамма-глобулина.

При статистической оценке существенности различий установлено, что отношение разности средних к средней ошибке разности равно 3,7, что указывает на существенность различий нейтрализующей способности. На это указывает и величина разницы.

Таким образом, из приведенных экспериментов следует, что Fab-фрагменты, выделенные из гамма-глобулина методом тепловой обработки, обладают практически одинаковой серологической и меньшей вируснейтрализующей активностью, чем исходные гамма-глобулины. В сообщении обсуждаются вопросы, связанные с практическим использованием полученных результатов.

СОДЕРЖАНИЕ БИОТИНА И ПАНТОТЕНОВОЙ КИСЛОТЫ В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВРЕМЕНИ ГОДА

Л. Н. ПОЛЕЩУК

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

Из литературных данных (Виноградова с соавт., 1956; Корнев с соавт., 1963; Виноградова, 1967) известно, что мясные питательные среды нестандартны по своему составу. В настоящем сообщении мы приводим материалы по изучению зависимости витаминов группы В биотина (витамин Н) и пантотеновой кислоты (витамин В₃) в мясных питательных средах от времени года. С этой целью был взят бульон Глузмана, применяемый для культивирования возбудителя ботулизма типов А и В при получении токсинов-анатоксинов для гипериммунизации лошадей-продуцентов. Было приготовлено 24 серии бульонов (120 опытных образцов), сделано 800 определений витаминов.

Наблюдения показали, что в весенний период количество биотина в среде составляет $0,25 \pm 0,04$ мкг% с колебаниями от 0,15 до 0,4 мкг%, в летний — $0,45 \pm 0,06$ мкг% с колебаниями от 0,2 до 0,65 мкг%, в зимний — $0,4 \pm 0,06$ мкг% с колебаниями от 0,25 до 0,65 мкг%, в осенний — $0,59 \pm 0,07$ мкг% с колебаниями от 0,4 до 0,85 мкг%. Сравнение уровня биотина в питательных средах в различное время года выявило, что содержание биотина в летний, зимний и осенний периоды достоверно выше, чем в весенний период (соответственно $p < 0,02$, $< 0,05$, $< 0,01$).

Уровень пантотеновой кислоты в среде Глузмана в весенний период составляет 39 ± 10 мкг% с колебаниями от 15 до 70 мкг%, в летний — 72 ± 8 мкг% с колебаниями от 45 до 100 мкг%, в зимний — 58 ± 7 мкг% с колебаниями от 40 до 90 мкг%, в осенний период — 95 ± 7 мкг% с колебаниями от 75 до 120 мкг%. Сравнение количества пантотеновой кислоты в средах в разные сезоны показало, что в абсолютных величинах уровень ее выше в летний, зимний и осенний период,

чем в весенний. Однако достоверные различия получены только в летний ($p < 0,02$) и осенний периоды ($p < 0,01$). Кроме того, нами проводились наблюдения по изучению содержания биотина и пантотеновой кислоты в мясной воде, одном из компонентов бульона Глузмана. Определение исследуемых витаминов проводили в свежеприготовленной мясной воде через 1, 2, 3 недели, 1, 1,5, 2 месяца с момента ее приготовления. Выполнено 336 определений биотина и пантотеновой кислоты. Наши данные показали, что в свежеприготовленной мясной воде количество биотина составляет $1,29 \pm 0,06$ мкг%, пантотеновой кислоты — $172 \pm 9,9$ мкг%. Уровень витаминов в мясной воде не меняется до 3 недель с момента приготовления, в дальнейшем происходит снижение исследуемых витаминов. Так, уровень биотина в мясной воде через 1 месяц хранения составляет $0,94 \pm 0,02$ мкг% ($p < 0,05$), пантотеновой кислоты — 103 ± 7 мкг% ($p < 0,05$), через 1,5 месяца — количество биотина составляет $0,92 \pm 0,04$ мкг% ($p < 0,02$), пантотеновой кислоты — 99 ± 5 мкг% ($p < 0,05$). Следует отметить, что хотя уровень витаминов в мясной воде достоверно снижен к этому сроку (1,5 месяца), но такой мясной водой пользоваться можно, так как она содержит оптимальное количество этих витаминов, необходимое для нормальной жизнедеятельности кл. ботулиnum типов А и В (Полещук, 1975). Через 2 месяца хранения мясной воды содержание витаминов в ней становится ниже оптимальных значений: биотина — $0,4 \pm 0,02$ мкг% ($p < 0,01$), пантотеновой кислоты — 74 ± 8 мкг% ($p < 0,01$), соответственно уменьшается количество биотина и пантотеновой кислоты в бульоне Глузмана.

Таким образом, низкая обеспеченность бульона Глузмана биотином и пантотеновой кислотой, с одной стороны, связана с применением для приготовления среды старой мясной воды (более 1—1,5 месяца с момента изготовления), с другой стороны, малым содержанием витаминов в мясе животных в весенний период, о чем говорят исследования ряда авторов (Дель, Прегер, 1967; Дель, Прегер, 1974).

ПРИНЦИПЫ КОНСТРУИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ АССОЦИИРОВАННЫХ ВАКЦИН

Б. Г. ТРУХМАНОВ

Институт полиомелита и вирусных энцефалитов АМН СССР, Москва

Ассоциированная вакцинация, широко применяемая для активной профилактики инфекционных заболеваний человека и животных еще с конца прошлого века, не имела достаточно обоснованных теоретических предпосылок. Существовали лишь две взаимоисключающие теории конкуренции антигенов (Михаэлис, 1904) с подавлением слабых антигенов более сильными и синергии, когда соединение нескольких антигенов усиливало их иммунизаторный эффект.

Однако обе теории относились лишь к процессу антителогенеза, совершенно не касались вопросов влияния ассоциированных препаратов на прививаемый организм и не могли служить теоретической основой для дальнейшего развития ассоциированной вакцинации.

Проведенное нами с сотр. (1948—1956 гг.) целенаправленное, системное и разностороннее изучение взаимодействия соединенных в комплекс различных вакцин, степени создаваемого иммунитета и, что особенно важно, воздействия их на прививаемый организм привело к открытию ряда специфических закономерностей, свойственных лишь ассоциированным вакцинам. Во-первых, было установлено отсутствие суммирования реактогенных свойств отдельных моновакцин при сведении в комплексный препарат, а при определенных условиях общая реакция организма оказалась ниже, чем на один изолированно введенный антиген.

Этот, парадоксальный на первый взгляд феномен был назван вначале интерференцией реакции (Трухманов, 1956), а затем феноменом нивелировки поствакцинальных реакций

(Трухманов, 1964) и объяснен нами как результат антагонистического действия различных антигенов на прививаемый организм. Во-вторых, аналогичная нивелировка реакций была показана и в отношении сенсibiliзирующих (аллергизирующих) свойств ассоциированных вакцин. В-третьих, установлена иммунологическая полноценность всех антигенов, входящих даже в очень сложные ассоциированные препараты-мультиантигены (до 20 моновакцин). Подбор правильных количественных пропорций между отдельными компонентами обеспечивал необходимый иммунологический ответ в отношении каждого из антигенов. В-четвертых, был выявлен весьма важный феномен замедленного антителиобразования при использовании ассоциированных вакцин, что необходимо учитывать при проверке напряженности иммунитета, так как отставание в нарастании титров антител может создать ложное представление об иммунологической неполноценности ассоциированных вакцин.

В-пятых, было установлено огромное значение индивидуальных особенностей организма, без учета которых можно совершенно неправильно интерпретировать полученные в эксперименте результаты. Основные принципиальные выводы могут быть сделаны только при использовании больших количеств экспериментальных животных.

В целом по результатам многочисленных исследований, проведенных с привлечением специалистов вакцино-анатоксинного производства, а также гематологов, биохимиков, физиологов, иммунологов, ветеринарных врачей (Триполитова, Краснова, Тихонова, Родюкова, Клейтман, Васильева, Ксенц, Маслянко, Никаноров, Невзорова, Васильев, Нифантова и др.) и применением самых различных методик было установлено, что с учетом вышеуказанных закономерностей можно использовать самые сложные ассоциации моновакцин, в принципе по своей реактогенности не отличающиеся от обычных монопрепаратов.

Все закономерности, постулированные нами еще в 1956 г. в Томске, получили полное подтверждение в многочисленных экспериментальных исследованиях и, что особенно ценно, в широких научно-производственных опытах на крупных партиях животных. Необходимый иммунологический эффект при использовании различных ассоциированных вакцин отмечен очень многими исследователями. Отсутствие суммации аллергенных свойств при объединении в комплекс подтвердили Ни-

каноров (1970), Новокрещенов (1971), Аветисян (1973), Казарян (1973) и др.

Феномен интерференции реакций при использовании разнородных вакцин подтвержден в работах Михальченко (1971), Панина (1967), Кадымова (1968—1974), Рыженко (1969), Никанорова (1970), Калашяна (1970), Бутьянова (1971), Сардаряна (1971), Аспанидзе (1972), Гогоряна (1972), Левашова (1972), Казаряна (1973), Конопаткина (1974) и др.

Все основные закономерности подтверждены также в научно-производственных опытах на значительном поголовье животных, в частности, в опытах Конопаткина (1970—1974) на свиньях (свыше 500000 голов), в опытах Кадымова (1974) на 2000000 овец, в опытах Аспанидзе (1972) — свыше 2000000 птиц и др.

В связи с тем, что установленные нами закономерности подтверждены в самых различных условиях с разными вакцинами и на многих видах животных (начиная от мелких: белые мыши, морские свинки, хомячки, кролики и кончая лошадьми и крупным рогатым скотом), они, несомненно, носят общеприродно-логический характер и могут быть использованы и для других целей, в том числе и при разработке препаратов будущего — вакцин химических и несколько позже молекулярных вакцин.

Полученные нами и другими исследователями результаты подвели фундамент под дальнейшее развитие проблемы ассоциированной вакцинации.

ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫЕ ИНФЕКЦИИ В РАЙОНАХ ИНТЕНСИВНОГО ПРОМЫШЛЕННОГО ОСВОЕНИЯ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Г. В. КОРНИЛОВА, А. П. АНДРЕЕВ

Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций

Решения XXIV и XXV съездов КПСС, постановления ЦК КПСС и Совета Министров СССР предусматривают развитие нефтегазодобывающей промышленности, создание на

базе нефтяных, газовых месторождений и промышленных запасов древесины крупнейшего народнохозяйственного комплекса. Выполнение этих важнейших в народнохозяйственном плане работ связано с использованием огромных ресурсов рабочей силы, что обуславливает большой приток нового населения на малообжитые территории Западной Сибири (районы Тюменского и Томского Приобья).

Социально-демографические процессы, происходящие на вновь осваиваемых территориях, изменили сложившуюся эпидемиологическую обстановку по целому ряду инфекционных болезней, в том числе по некоторым природно-очаговым инфекциям.

Районы Приобья в ландшафтно-географическом отношении представляют собой лесную зону (средняя, северная тайга) Западно-Сибирской низменности (Рихтер, 1963) и являются эндемичными по вышеуказанным инфекциям. Это обуславливает значительную вероятность возникновения эпидемических вспышек этих заболеваний как среди различных контингентов пришлого населения (строители, геологи, нефтегазопромысловики, лесники и т. д.), а также среди коренного населения.

По литературным данным (исследования Томского НИИВСа, Тюменского НИИКИПа), а также по нашим наблюдениям (1970—1975 гг.), установлено эпидемиологическое проявление природных очагов (клещевого энцефалита, эндемических риккетсиозов, лептоспирозов, туляремии) как в форме клинической заболеваемости, так и «проэпидемичвания» населения. Однако обобщающих данных в целом по региону о эпидемиологической активности природных очагов этих инфекций и прогноза о его интенсивности в условиях промышленного освоения пока не было. Поэтому изучение интенсивности эпидемического процесса данных инфекций среди населения (особенно коренного) является весьма актуальным, поскольку вновь создаваемые промышленные комплексы и населенные пункты могут оказаться в идентичных природно-территориальных уровнях.

Так, например, антитела к вирусу клещевого энцефалита выявлены у жителей от 1,9 до 59,5 %, что указывает на различные условия «проэпидемичвания» даже на территории одного административного района. Особый интерес представляют серологические исследования сывороток крови у корен-

ного населения из районов (Березовский, Шурьшкарский), которые располагаются за пределами распространения эпидемиологически значимого переносчика таежного клеща.

Нами (Андреев с соавт., 1975) впервые на севере Западной Сибири установлен необычный феномен — в ландшафтной зоне (северная тайга, лесотундра) при отсутствии контактов человека с клещами-переносчиками, выявлена иммунная прослойка к вирусу клещевого энцефалита (колеблется от 1,9 до 16,8%, титры — от 1:20 до 1:320).

Результаты исследований, проведенных в отношении эндемических риккетсиозов, указывают на то, что впервые в зоне средней тайги получены серопозитивные результаты к возбудителям клещевого риккетсиоза Азии и Ку-лихорадки у людей. Кроме того, в данной подзоне при помощи иммунолюминесцентного метода удалось в таежном клеще одновременно обнаружить возбудителей клещевого риккетсиоза Азии, клещевого энцефалита и Ку-риккетсиоза (Шайман с соавт., 1974).

Перспективы быстрого роста поголовья скота и образования крупных животноводческих хозяйств в районах Приобья совершенно реальны, поскольку это диктуется интересами обеспечения растущего населения важнейшими продуктами питания. Развитие животноводства, увеличение площадей пастбищ и нагрузка их скотом не может не повлиять на интенсификацию обмена лептоспирами между домашними и дикими животными и в результате на возникновение внутристадных (антропургических) очагов лептоспирозов, эпидемиологической опасностью которых нельзя пренебрегать. Полученные результаты позволяют нам составить довольно полное представление об этнологических структурах лептоспирозов и установить, что вероятность возникновения эпизоотических вспышек, а вслед за ними и эпидемических заболеваний не может быть исключена ни в одном из обследованных районов.

Результаты проведенных исследований уже сейчас позволяют дать прогноз потенциальной опасности осваиваемых территорий и четко спланировать (определить) проведение профилактических мероприятий в наиболее неблагоприятных участках такого обширного региона.

КЛЕТОЧНЫЕ И ГУМОРАЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ ЗАЩИТЫ ОРГАНИЗМА ПРИ ИММУНИЗАЦИИ СОРБИРОВАННЫМИ ГАНГРЕНОЗНЫМИ МОНОАНТИГЕНАМИ И ДИАНАТОКСИНОМ

Р. Н. ЖИКИНА, Ж. Н. РОМАНОВА

Пермский ордена Трудового Красного Знамени
научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

В этиологии газовой гангрены ведущая роль принадлежит двум возбудителям из группы анаэробов — кл. перфрингенс и кл. эдематненс.

Сводные данные Цехновицера указывают, что кл. перфрингенс является причиной газовой гангрены в 91—100%, кл. эдематненс — в 21—35%. Другие анаэробы в инфицированных ранах встречались значительно реже и выделялись исследователями в единичных случаях.

Это весьма важное обстоятельство было положено в основу конструирования профилактических препаратов.

Целью нашей работы явилось сравнительное изучение иммунологической активности монопрепаратов и приготовленного путем их сведения дианатоксина.

Опыты проведены на кроликах весом 3,0—3,5 кг. Животных вакцинировали двухкратно с интервалом в 28 дней, через 6 месяцев кроликов ревакцинировали. Прививочная доза равнялась 30 ЕС анатоксина перфрингенс или 10 ЕС анатоксина эдематненс; в дианатоксин препараты сводились в тех же количествах.

Об иммунологическом ответе судили по показателям фагоцитарной реакции по отношению к кл. перфрингенс и кл. эдематненс и уровню соответствующих антитоксинов в крови иммунизированных животных. Титр антитоксинов определяли методом биологического титрования на белых мышях весом 16—18 г. Фагоцитарную активность лейкоцитов изучали по общепринятой методике путем смешивания равных объемов стабилизированной гепарином крови и бактериальных взвесей кл. перфрингенс или кл. эдематненс, содержащих в 1 мл 1 млрд. микробных тел.

Для количественной характеристики фагоцитоза мы пользовались фагоцитарным числом.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют об усилении клеточных факторов защиты организма в процессе формирования поствакцинального иммунитета. Однако на первых этапах иммунологической перестройки поглотительная способность нейтрофильных лейкоцитов по отношению к одноименному возбудителю заметно снижается.

Так, у кроликов, иммунизированных анатоксином перфрингенса и дианатоксином, на 14-й день после вакцинации отмечалось статистически достоверное ($p < 0,01$) падение показателей фагоцитарной реакции по отношению к кл. перфрингенса (с 15,92 до 11,78 в группе кроликов, которым вводили монопрепарат и с 16,98 до 11,77 у животных, иммунизированных дианатоксином). По отношению же к кл. эдематенс тормозящее влияние вакцинации проявилось на 30-й день после введения анатоксина эдематенс и дианатоксина (соответственно с 4,57 до 3,70 и с 4,56 до 3,64).

Во все остальные сроки наблюдения на протяжении года фагоцитарное число по отношению к обоим возбудителям газовой гангрены значительно превышало показатели фоновых опытов. При этом общий характер фагоцитарной реакции при отдельной иммунизации и при использовании для этой цели комплексного препарата остается идентичным.

Наблюдение за динамикой титров антитоксинов в крови подопытных животных при иммунизации их монопрепаратами и дианатоксином выявило некоторые преимущества сложного препарата.

Продукция противогангренозных антител при вакцинации животных дианатоксином была более интенсивной. На 14-й день после его введения антитоксин перфрингенса в среднем по группе определялся на уровне 0,32 МЕ, антитоксин эдематенс — 0,95 МЕ, в то время как при отдельной иммунизации кроликов гангренозными антигенами эти показатели равнялись соответственно 0,19 и 0,50 МЕ.

В период максимального накопления (на 14-й день после двухкратной иммунизации) средний арифметический титр антитоксина перфрингенса был равен в группе кроликов, иммунизированных дианатоксином 5,60 МЕ, в группе кроликов, получивших монопрепарат, — 3,19 МЕ; антитоксин эдематенс

определялся приблизительно на одинаковом уровне в обеих наблюдаемых группах.

Следует отметить, что под влиянием дианатоксина происходила более глубокая иммунологическая перестройка организма. Это выражалось прежде всего в том, что у животных, привитых комплексным препаратом, противогангренозные антитела сохранялись дольше, чем у кроликов, получивших моноантигены.

Так, через 6 месяцев после двухкратной иммунизации дианатоксином у кроликов данной группы регистрировались антитела к возбудителям газовой гангрены. В то же время в группах кроликов, иммунизированных монопрепаратами антитоксина эдематисенс определялся лишь у одного животного, антитоксина перфрингенс — у двух (в каждую подопытную группу было включено по 5 кроликов).

Преимущество дианатоксина проявилось и в ревакцинационном ответе. Уровень антител к токсину перфрингенс у кроликов, получивших в качестве антигенного стимула сложный препарат, почти в 3 раза превышал этот показатель у животных, иммунизированных анатоксином. Антитоксический титр эдематисенс также был значительно выше при введении дианатоксина (7,55 МЕ/мл по сравнению с 4,18 МЕ/мл).

Таким образом, в результате изучения динамических сдвигов фагоцитоза и антиоксинообразования при иммунизации кроликов монопрепаратами и полученного путем их сведения дианатоксином выявлена большая иммуногенная активность дианатоксина. Это проявилось как в ускоренной продукции антител к обоим возбудителям газовой гангрены, так и в более длительном сохранении их в организме иммунизированных животных. В отношении фагоцитарной реакции существенных различий при вакцинации этими препаратами не было отмечено.

ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКАЯ РЕАКТИВНОСТЬ ОРГАНИЗМА ПРИ РЕВАКЦИНАЦИИ ПРЕПАРАТАМИ, ПРИГОДНЫМИ ДЛЯ АЭРОЗОЛЬНОГО И ПОДКОЖНОГО МЕТОДОВ ВВЕДЕНИЯ

Н. И. ШИПУЛИНА

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

В осложненной эпидемиологической обстановке для осуществления массовой экспрессной иммунизации может быть использован метод аэрозольного введения вакцинных препаратов. Исследованиями Александрова, Гэфен (1967), Воронцова с соавт. (1967), Мирошниченко (1968), Егоровой (1970) и др. была показана принципиальная возможность ингаляционной иммунизации сухими химическими вакцинами из анатоксинов и бактериальных антигенов как в эксперименте на животных, так и в испытании на людях.

В Томском НИИВСе в течение 1972—1975 гг. была освоена технология получения тифозно-столбнячно-ботулинической (типов А, В, Е), гангренозной (перфрингенс, эдематигенс) вакцины. Активность сухого комплексного препарата по ботулиническому анатоксину типа А составляла 10—20 ЕС/мг, типа В — 5—10 ЕС/мг и типа Е — 1—2 ЕС/мг. Гангренозные анатоксины типа перфрингенс и эдематигенс имели активность 4—5 ЕС/мг. Сухая вакцина содержала 0,1 мг брюшнотифозного антигена (Шипулина с соавт., 1973, 1974).

В экспериментах на животных была показана достаточная иммунологическая эффективность сухого препарата в условиях аэрозольной ревакцинации. Одновременно данная комплексная вакцина была использована для подкожного введения с помощью пневматического инъектора (БИП-4) из расчета 1 мг в 1 мл физиологического раствора. Сравнительное изучение напряженности иммунитета показало, что титр ботулинического антитоксина типа А возрастал с 0,08 до 1,0 МЕ/мл при аэрозольной ревакцинации и с 0,05 до 2,1 МЕ/мл — подкожном введении этого же препарата, типа В — соответственно с 0,01 до 0,5 и от 0,01 до 2,1 МЕ/мл, типа Е — соответственно с 0,18 до 1,8 и от 0,16 до 10,5 МЕ/мл. Количество столбнячного антитоксина увеличивалось после аэрозоль-

ной ревакцинации от 0,2 до 4,0 МЕ/мл, а при введении препарата с помощью инъектора — от 0,2 до 8,8 МЕ/мл. Титр гангренозного антитоксина перфрингенса возрастал при ингаляционном введении вакцины до 0,8 МЕ/мл, подкожном — 1,3 МЕ/мл, эдемаггенине — соответственно до 1,6 и 3,3 МЕ/мл. Брюшнотифозный антиген, вводимый в комплексе с анатоксинами аэрозольным и подкожным методами, вызывал в период 7—21 суток нарастание О- и Vi-агглютининов, выявляемых в реакции пассивной гемагглютинации.

Помимо уровня антител для более полной характеристики сухого аэрозольного препарата проводилось определение некоторых факторов неспецифического иммунитета: титра комплемента, лизоцима, пронердина. Установлено, что аэрозольное и подкожное введение сухой брюшнотифозной вакцины с секстаанатоксеном не оказывает отрицательного влияния на гуморальные факторы неспецифической реактивности организма.

Положительные результаты, полученные в эксперименте на животных, позволили перейти к испытанию сухого комплексного препарата на добровольцах. Исследования были проведены на подростках (21 чел.), предварительно двукратно подкожно вакцинированных химической брюшнотифозной вакциной с секстаанатоксеном в дозе 1,0 мл. Ревакцинация аэрозольным методом была проведена через год в пятикубовой камере с использованием распылителя ПАВ-65-М в течение 15 минут. Для иммунизации была приготовлена сухая химическая тифозно-ботулиническая А, В, Е-тетравакцина с активностью по типу А — 15, типу В — 8, типу Е — 1—2 ЕС/мг, содержащая 0,1 мг брюшнотифозного антигена. Часть людей была ревакцинирована сухим ботулиническим типов А, В, Е-трианатоксеном с активностью по типу А — 20, типу В — 8, типу Е — 2 ЕС/мг. Сравнительное изучение иммунологической эффективности показало, что у всех подростков на 14-й день после аэрозольной ревакцинации происходило накопление специфических антител. Так, средний геометрический титр ботулинического антитоксина типа А увеличился по сравнению с фоном в 42—45 раз, типа В — 4—5 раз, типа Е — 8—10 раз. Брюшнотифозный антиген, вводимый аэрозольно в комплексе с анатоксинами, вызывал нарастание О- и Vi-агглютининов.

Одновременно с определением специфических показателей исследовались некоторые факторы неспецифической реактив-

ности организма: титры комплемента, лизоцима, бактерицидная активность сыворотки крови. Анализируя полученные результаты, можно сказать, что введение вакцины через дыхательные пути также не угнетает естественной реактивности организма человека.

Таким образом, проведенные экспериментальные исследования показали возможность использования регидратированного несорбированного препарата для подкожного введения. Аэрозольная ревакцинация как в эксперименте на животных, так и в наблюдении на людях обеспечивает необходимую специфическую перестройку и не оказывает отрицательного влияния на гуморальные факторы иммунитета.

РЕАКЦИЯ ОРГАНИЗМА НА ВВЕДЕНИЕ УМЕНЬШЕННЫХ ДОЗ БРЮШНОТИФОЗНОЙ ВАКЦИНЫ С СЕКСТАНАТОКСИНОМ

Л. Л. ТЕПЛЯКОВА

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

В настоящее время в практике здравоохранения используется ряд многокомпонентных ассоциированных вакцин. Такими являются брюшнотифозная вакцина с тетра- и секстанатоксином, которые с 1971 г. выпускаются Томским НИИВСом и предусматривают профилактику брюшного тифа, столбняка, ботулизма типов А, В, Е и газовой инфекции (эдематичес и перфрингенс). Введение в организм антигенов вызывают общую и местную реакции, специфическую иммунологическую перестройку и развитие комплекса общих неспецифических реакций, затрагивающих в различной степени основные системы и функции организма.

Реактогенность препаратов изучена в течение 1971—1975 гг. у 1090 человек, из которых 374 были привиты брюшнотифозной вакциной с тетраанатоксином, 716 — различными вариантами брюшнотифозной вакцины с секстанатоксином.

Наши исследования показали, что общая реакция на введение препарата зависела от возраста привитых, серии и вида вакцины. У лиц 18—19 лет она была менее выражена, чем у 15—17-летних. Разные серии препарата давали неоднознач-

ную реакцию. Вакцина с секстаанатоксином имела более выраженные реактогенные свойства, чем с тетраанатоксином.

В связи с этим возникла мысль о возможности уменьшения дозы компонентов, входящих в комплексный препарат, с целью снижения реактогенности, при условии сохранения ее иммунологической активности, для чего предприятием ТомНИИВСа приготовлены два варианта вакцины.

Под наблюдением было 716 человек, привитых различными вариантами брюшнотифозной вакцины с секстаанатоксином. Они составили четыре группы. Первая (393 чел.) получила полную дозу коммерческого препарата. Вторая (158 чел.) привита уменьшенной дозой вакцины, в 1 мл которой содержание анатоксинов сокращено в два раза, за исключением брюшнотифозного и гангренозного (перфрингенса) компонентов. Третья (73 чел.) привита вакциной, в 1 мл которой содержание всех анатоксинов уменьшено в два раза, и четвертая (92 чел.) получила половинную дозу коммерческого препарата.

У всех привитых изучалась общая и местная реакции через 24—48 часов после вакцинации. Средняя температурная реакция в первой группе наблюдалась чаще, чем в трех последующих группах. Сильные реакции у лиц, привитых уменьшенными дозами вакцины, отсутствовали, тогда как в первой группе они составили 0,3%.

Процент положительных местных реакций во всех группах у привитых колебался незначительно. Однако она была от 5 до 10 см в первой группе в большем проценте. Отечность ткани более 10 см в последних трех группах отсутствовала, тогда как в первой группе она составила 6,1%.

Таким образом, общая и местная реакции (отек ткани, гиперемия) были в прямой зависимости от дозы вводимого препарата.

С целью изучения иммунологической активности различных доз препарата проверена сыворотка 280 человек в возрасте 16—17 лет, в которой определялись брюшнотифозные O- и Vi-агглютинины в реакции пассивной гемагглютинации, ботулиновые типов А, В, Е, столбнячные и гангренозные (эдематисенс и перфрингенса) антитоксины после второй вакцинации, до и после ревакцинации.

Было установлено, что введение уменьшенных доз хотя и создавало менее напряженный иммунитет, по сравнению с коммерческим препаратом, но он был выше защитного титра

(0,01 ME). Исключением являлся гагренозный (перфрингенс) компонент, введение которого как в полной, так и в уменьшенных дозах не приводило к выработке полноценного иммунитета.

Изучение изменений, происходящих со стороны периферической крови у привитых первой и второй групп, показало, что независимо от дозы вводимого препарата наблюдались ускоренная РОЭ, лейкоцитоз и сдвиг формулы белой крови влево за счет увеличения количества сегментоядерных нейтрофилов. Эти изменения отмечались с первых суток и сохранялись до 3—28 дней (срок наблюдения).

Изучены некоторые показатели гуморального иммунитета у подростков первой и второй групп. Однократное введение как полной, так и уменьшенной дозы вакцины вызвало изменение комплементарной активности сыворотки, т. е. наблюдалось незначительное статистически недостоверное повышение его по сравнению с фоном к 7-м и более заметное к 28-м суткам, с некоторым снижением показателя на 14-е сутки. В этих же двух группах отмечено статистически достоверное падение лизоцима на 7-е сутки с постепенным его возрастанием в последующие сроки. Однако этот показатель и на 28-е сутки все еще не достигал фонового значения. Изменений со стороны бактерицидной активности сыворотки крови в обеих группах не наблюдалось.

Таким образом, показана возможность снижения дозы вакцины, что позволит уменьшить реакцию организма на введение препарата с сохранением иммунологической активности. Одновременно показано, что изменения, наблюдаемые со стороны некоторых факторов неспецифического иммунитета, являются незначительными.

ОБМЕН ВЕЩЕСТВ ПРИ ИММУНИЗАЦИИ ВИРУСНЫМИ АНТИГЕНАМИ

Т. С. ФЕДОРОВА

Томский ордена Трудового Красного Знамени медицинский институт,
Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский
институт вакцин и сывороток

До настоящего времени число работ, рассматривающих

влияние иммунизации на обменные процессы, ограничено: они касаются, главным образом, изменений при однократном введении бактериальных и токсических препаратов, сведений о воздействии на организм вирусных антигенов почти не имеется.

Целью данного сообщения является анализ ряда показателей обмена веществ и специфических факторов гуморального иммунитета в процессе длительного введения вирусов клещевого энцефалита (КЭ) и западного энцефаломенингита лошадей (ЗЭЛ), репродуцированных в мозге белых мышей и культуре клеток эмбриона курицы.

Исследования проводили на кроликах, объектами изучения служили кровь и ее сыворотка, ткани печени, селезенки, околопочечного жира. Эксперименты ставили в основном на 7-й день (продуктивная фаза иммуногенеза) после одной, двух инъекций (1 цикл) или 5 циклов (периоды между циклами равнялись 10 дням). Животные по характеру использованных антигенов были разделены на 8 групп. Эффективность иммунизации устанавливалась путем определения вируснейтрализующей активности сыворотки крови, тканей печени и селезенки, а также по титру гасящих гемагглютинацию антител в сыворотке крови. Активное антителообразование было при использовании вируса ЗЭЛ. После сопоставления действия вирусов, репродуцированных в культуре тканей и мозге белых мышей, следует отметить более выраженную иммуногенность мозговых антигенов.

При анализе влияния всего набора взятых антигенов обнаружены закономерные изменения обмена веществ, зависящие от этапа гипериммунизации. Установлено, что наибольшие сдвиги выявляются после одно- и двукратного введения антигенов. Характерным является увеличение белка в селезенке, а в ряде случаев и в сыворотке крови. Одновременно с интенсификацией биосинтеза протенинов при повышенной активности аминоацил-т-РНК-лигаз усиливаются и другие процессы метаболизма аминокислот, например, трансаминирование. Активация анаболического звена белкового обмена сочетается со стимуляцией катаболических реакций как для белков, так и углеводов. При этом увеличивается расщепление гликогена, что сопровождается уменьшением содержания его в печени при высокой активности фосфоорилазы. Это особенно четко выявляется после разового антигенного раздражения. Однако накопления промежуточных продуктов угле-

водного обмена, таких, как лактат и пируват, не происходит. Активируются ферменты начального этапа пентозного цикла, обеспечивающего организм пентозами для нуклеиновых кислот и других соединений.

После реиммунизации вирусом КЭ, репродуцированным в мозговой ткани, отмечается ряд особенностей метаболизма углеводов. Содержание глюкозы печени и крови повышается, что, вероятно, обусловлено стимуляцией гликогеногенеза, активированного усиленно синтезирующими глюкокортикоидами, и снижением интенсивности других превращений этого вещества.

После первой встречи с антигенами увеличенное расходование продуктов углеводного обмена сопровождается накоплением общих липидов, фосфолипидов, холестерина, свободных жирных кислот в сыворотке крови, а первых двух — и в ткани печени. Одноцикловая иммунизация вызывает идентичные изменения, но концентрация холестерина, свободных жирных кислот сыворотки крови снижается, нормализуется и содержание общих липидов печени. Следовательно, активация анаболического звена белкового обмена при реиммунизации протекает с увеличением доли липидного обмена и с угнетением в некоторых случаях гликолиза (иммунизация мозговой суспензией, содержащей вирус КЭ).

Длительное введение антигенов приводит к накоплению запасов белка в селезенке при повышенном обеспечении этого органа макроэргическими соединениями. Одновременно уменьшается фонд аминокислот при усилении реакций переаминирования. Активируется и катаболическое звено метаболизма протенинов: возрастает протеолитическая активность и автолиз. В печеночной ткани на 7-й день после окончания гипериммунизации происходит нормализация многих величин, однако в этом органе, так же как и в сыворотке крови, остается низкой концентрация некоторых аминокислот. У ряда групп иммунизированных кроликов обнаружен и повышенный уровень сывороточных белков.

Пятицикловая иммунизация протекает при меньших изменениях не только белкового, но углеводного и липидного обменов. Стойко сохраняется повышенная активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. При анализе особенностей липидного обмена следует отметить дальнейшее снижение содержания общих липидов, фосфолипидов, холестерина, свободных жирных кислот сыворотки крови и первых двух в печени по

сравнению с ранними этапами иммунизации. Вместе с тем отмечается подъем уровня бета-липопротеидов и увеличение полиненасыщенных жирных кислот в сыворотке крови и печени.

Прослеживается своеобразие влияния вирусов КЭ и ЗЭЛ на метаболизм. Если первый, репродуцированный в мозге, оказывал отчетливое действие на углеводный обмен, то вирус ЗЭЛ вызывал более значительные изменения ряда показателей превращений липидов.

Экспериментальные данные демонстрируют меньшее воздействие на обмен веществ длительного антигенного раздражения при сравнении с ранними этапами иммунизации, что указывает на большие компенсаторно-адаптационные возможности организма.

АНТИВИРУСНЫЕ ВЕЩЕСТВА, СИНТЕЗИРУЕМЫЕ КЛЕТКАМИ ПОД ВЛИЯНИЕМ НЕКОТОРЫХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СРЕДСТВ

В. Е. ЯВОРОВСКАЯ, А. С. САРАТИКОВ, Т. П. ПРИЦЕН,
М. А. ЛУТЦЕВА, В. Н. КИСЕЛЕВА,
С. К. БЛАГЕРМАН, А. Н. КОСТОМАХА

Томский ордена Трудового Красного Знамени медицинский институт
Новосибирский медицинский институт

Последнее десятилетие ознаменовалось появлением первых соединений, обладающих антивирусным действием. Однако имеется огромный разрыв между количеством препаратов, оказывающих антивирусный эффект в эксперименте, и количеством соединений, пригодных для практического использования. Описаны сотни синтетических и природных веществ с доказанной противовирусной активностью, из которых только единицы рекомендованы для клинической апробации.

Задача настоящего исследования заключалась в определении возможной антивирусной активности уже положительно себя зарекомендовавших в клинической практике малотоксичных нестероидных противовоспалительных средств группы пиразола. Теоретической предпосылкой начального этапа ис-

следований явилась развиваемая в последнее время бактериально-вирусная концепция этиопатогенеза ревматизма (Задесский, 1955), в терапии которого широко используют противовоспалительные средства. Учеными кафедры микробиологии Новосибирского медицинского института, работающими над развитием этой гипотезы, на протяжении последних 20 лет регулярно выделяются вирусы Коксаки (с преобладанием Коксаки А13) из крови и тканей сердца больных ревматизмом. Экспериментально доказаны кардиотропные свойства этих вирусов и их способность к персистенции в тканях сердца (Благерман, 1966; Волкош, 1975).

Предварительно проведенные исследования трех производных пиразола показали (Саратиков и соавт., 1973), что они не оказывают бактерицидного действия на культуры гемолитического стрептококка и не действуют на экстрацеллюлярный вирус Коксаки А13. Вместе с тем изучаемые соединения оказывали определенное защитное влияние на клетки культуры фибробластов эмбриона человека (ФЭЧ), так как предварительный контакт в течение 2—72 часов с препаратами сообщал клеткам устойчивость к цитопатическому действию (ЦПД) вируса Коксаки А13 (задержка появления ЦПД). Увеличение времени предварительного контакта препаратов с клетками ФЭЧ приводило к наибольшей резистентности клеток к действию вируса. Эти наблюдения позволили предположить, что производные пиразола индуцируют продукцию клетками защитных веществ со свойствами антивирусных ингибиторов (АИГ). Как оказалось, АИГ, в отличие от интерферона, не обладают видотканевой специфичностью, устойчивы к протеолитическим ферментам, инактивируются в кислой среде, а индукторы АИГ существенно повышают функциональную активность клеток ФЭЧ (Саратиков и соавт., 1974, 1975).

Целью дальнейшей работы было изучение индуцирующей АИГ способности 34 препаратов, являющихся: 1) производными 4-аминоантипиррина, ацилированными кислотами ароматического ряда — 13 соединений; 2) производными 4-аминоантипиррина, ацилированными кислотами алифатического ряда — 11 соединений; 3) метилантипириламидами — 2 и 5) отдельными производными 4-оксиацетиламинопирриламидами. Индуцирующую АИГ активность препаратов определяли в культурах клеток ФЭЧ, фибробластов эмбрионов кур (ФЭК) и в разви-

вающихся куриных эмбрионах. В качестве тест-объектов применяли вирусы РНК-содержащие (Коксаки А13, ЕСНО 11, везикулярного стоматита-ВВС, болезни Ньюкасла-ВБН, парагриппозный, Сендай) и ДНК-содержащие (аденовирус 23 типа, герпеса, осповакцины).

Исследования показали, что 15 препаратов из 41 обладают индуцирующей АИГ активностью; наиболее активными из них являются 2 соединения из первой группы и 1 — из третьей, задерживающие ЦПД РНК-содержащих (Коксаки А13, ЕСНО 11, ВВС) и ДНК-содержащего (адено-23) вирусов, а также — 2 соединения из второй группы, задерживающие ЦПД трех РНК-содержащих вирусов (Коксаки А13, ЕСНО 11, ВВС).

Эффективность индукторов АИГ дополнительно оценивали по степени образования негативных колоний (бляшек) ВВС в культуре ФЭК и вирусных гемагглютининов (ВБН и вирус Сендай) в куриных эмбрионах. При предварительном 48-часовом контакте с клетками 4 антипириламида подавляли бляшкообразование ВВС на 83,1—92,0 %, 2 соединения снижали титр гемагглютининов ВБН в 16 раз, 3 препарата снижали титр гемагглютининов вируса Сендай в 8 раз.

НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ИММУНИТЕТА ПРИ ВВЕДЕНИИ РАЗЛИЧНЫХ АДЪЮВАНТОВ

С. И. ШАПАРЕВА

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцин и сывороток

Вакцинация растворимыми антигенами предусматривает создание напряженного иммунитета путем максимального вовлечения в иммуногенез защитных механизмов организма. Последнее достигается совместным введением антигенов и адъювантов. По мнению Учитель с соавт. (1964), стимуляция антителообразования депонированными антигенами, адъювантами и липополисахаридами объясняется общей способностью их вызывать неспецифические изменения гомеостаза, благоприятные для проявления антигенного действия. Так, ряд исследователей (Учитель, Хасман, 1964; Гурвич с

соавт., 1964; Сафонова, Аветикян, 1966; Пиллемер с соавт., 1956) указывают на то, что введение адьювантов сопровождается усилением общего протеосинтеза, активизацией фагоцитарных и гуморальных механизмов. Однако влияние адьювантов на неспецифические факторы иммунитета изучалось в основном в отношении липополисахаридов, нативных и очищенных, а также липидной фракции этого комплекса (пирогенала). Полисахаридный же комплекс с этих позиций не изучался.

В задачу наших исследований входило определение неспецифических факторов гуморального иммунитета при введении минерального и полисахаридного сорбентов.

Для характеристики неспецифической реактивности организма нами определялись титры комплемента, лизоцима, пропердина и бактерицидная активность сыворотки крови.

Комплементарная активность исследовалась методом титрования по 50 %-ному гемолизу (Резникова, 1967), стандартизация бараньих эритроцитов проводилась по проценту гемоглобина (Вагнер, 1963). Активность лизоцима в сыворотке крови определялась нефелометрическим способом (Дорофейчук, 1968). Бактерицидная активность сыворотки крови исследовалась в отношении культуры кишечной палочки (штамм Ош) по методике, описанной Ананьиной (1966).

Уровень пропердина учитывался по методу Коглер в модификации Даниловой (1971).

Показатели неспецифической резистентности определялись на 1, 3, 7, 14, 21-е сутки после введения адьювантов.

Под наблюдением находились 20 кроликов весом 1,5—2 кг. Адьюванты вводились в виде суспензии инъектором БИП-4 в количестве 8 мг по сухому остатку в объеме 1 мл. В качестве сорбентов полисахаридной природы нами исследовались коммерческий препарат ДЭАЭ и наполнитель*, обладающий сорбционными свойствами. Из минеральных сорбентов использовалась широко применяемая в настоящее время гидроокись алюминия.

Учитывая, что периодические кровопускания (0,5—0,7%) от веса тела животных оказывают существенное влияние на факторы естественной резистентности (Журавлева, 1970, Земсков, 1972), изучение последних проводилось одновременно.

* Наполнитель — вещество, используемое для приготовления сухих полидисперсных аэрозольных препаратов.

но в контрольной группе кроликов, подвергавшихся лишь кровопусканиям.

Результаты исследования показали, что введение различных сорбентов оказывает определенное влияние на неспецифические показатели иммунитета. Комплементарная активность сыворотки крови в течение первых суток существенно не изменилась некоторое повышение в этот период наблюдалось в группе животных, получивших ДЭАЭ-целлюлозу, на 3-и сутки опыта титр комплемента как в опытных, так и в контрольной группах кроликов возрастал, достоверное увеличение комплементарной активности отмечалось в группе животных, получивших ДЭАЭ-целлюлозу. В последующие сроки (7—14-е сутки) наблюдалось снижение титра комплемента в сыворотке крови животных, после введения полисахаридных адьювантов, к концу срока исследования (28-е сутки), отмечалась нормализация комплементарной активности в этих группах. Аналогичные по характеру изменения наблюдались в контрольной группе животных. Титры комплемента при введении гидроокиси алюминия несколько превышали фоновые значения во все сроки исследования.

Анализируя изменения титра лизоцима, следует отметить однотипные изменения этого показателя как в опытных, так и в контрольной группах. На протяжении всего срока наблюдения лизоцимная активность сыворотки крови животных превышала фоновые значения этого фермента. Достоверное ($p < 0,05$) повышение титра лизоцима отмечалось на 7-е и 14-е сутки опыта.

Уровень пропердина в сыворотке крови животных опытных групп превышал значения фона на 7-е сутки после введения минерального сорбента и некоторое снижение данного показателя отмечалось при введении полисахаридных адьювантов. В последующие сроки исследования уровень пропердина в этих группах существенно не изменялся. В контрольной группе животных титр пропердина находился на уровне фоновых значений во все сроки наблюдения.

Изменения бактерицидной активности сыворотки крови в опытных группах кроликов при введении различных адьювантов существенно не отличались от таковых в контрольной группе, некоторое снижение бактерицидной активности в первые сутки исследования сменялось нормализацией этого показателя в последующие сроки наблюдения.

Таким образом, проведенные исследования показали, что введение различных адьювантных веществ вызывает фазные изменения со стороны показателей неспецифической резистентности.

АНАФИЛАКТОГЕННЫЕ И ГИСТАМИНСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА КОКЛЮШНЫХ МОНОВАКЦИН ИЗ СВЕЖЕВЫДЕЛЕННЫХ ШТАММОВ

Х. З. МАКСУДОВА

Ташкентский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток

Как известно, коклюшные микробы и приготовленные из них вакцины способны вызывать в организме животных явление специфической и неспецифической сенсibilизации. К тому же, по мнению ряда авторов (Колчугина, 1960; Ковальская, 1969), применяющаяся в настоящее время АКДС-вакцина обладает выраженными сенсibilизирующими и алергизирующими свойствами, зависящими в значительной степени от присутствия коклюшного компонента.

По данным Сумарокова (1964), Добжинской (1969), экспериментальные животные, иммунизированные коклюшной вакциной, приобретают повышенную чувствительность к повторному введению коклюшных препаратов, которая приводит к развитию анафилактического шока, заканчивающегося их гибелью.

В лаборатории коклюшных вакцин ТашНИИВСа были всесторонне изучены наиболее иммуногенные свежесвыделенные коклюшные штаммы (8, 33, 187, 626, 676, 1226) в сравнении с производственными штаммами (305 и 345), из которых готовили полупроизводственные серии моновакцины в соответствии с требованиями МРТУ-42.

Целью настоящей работы явилось изучение анафилатогенных и гистаминсенсibilизирующих свойств изготовленных вакцин. Опыты проводили на белых мышах весом 20—25 г. Каждой группе мышей (по 30 шт.) внутрибрюшинно вводи-

ли вакцину в объеме 0,5 мл в количестве 10 млрд. микробных клеток (м. к.). Через 10 дней животные получали разрешающую инъекцию вакцины в дозе 20 млрд. м. к. У мышей развивалась типичная картина анафилактического шока, заканчивающегося их гибелью. Результаты опытов показали, что все проверенные моновакцины наряду с контрольными обладали выраженными анафилатогенными свойствами. После введения разрешающей дозы вакцины, содержащей 20 млрд. м. к., наблюдалась гибель от анафилактического шока 82,1—96,4% животных. Исключение составила вакцина из штамма 187, вызывающая гибель лишь 53,5% мышей. Повышенная чувствительность мышей, иммунизированных коклюшными препаратами, на введение гистамина описана Перфентьевым в 1947 г. Приготовленные моновакцины из свежвыделенных штаммов проверялись также на наличие гистаминсенсibilизирующих свойств в опытах на белых мышах весом 20—25 г. Животным внутрибрюшинно вводили различные дозы коклюшной вакцины (от 1,25 г до 20 млрд. м. к.).

Через 5 дней животные получили инъекцию гистамина в количестве 2 мг. Разведение гистамина делали непосредственно перед введением. За животными наблюдали в течение 30 минут, 1 час и 24 часа, отмечая их гибель. Величину ГСД₅₀ подсчитывали методом Рида и Менча.

Результаты проверки свидетельствуют о том, что проверенные моновакцины обладали гистаминсенсibilизирующими свойствами в различной степени. Наибольшую сенсibilизацию мышей вызывало введение вакцины из штаммов 626, 676 и контрольного 305. Величина ГСД₅₀ равнялась 12, 15, 25 и 16,36 млрд. м. к. Что касается вакцины из штаммов 33, 187 и 8, то величина ГСД₅₀ находилась в пределах 20 млрд. м. к. Это свидетельствует об их низкой сенсibilизирующей активности. Таким образом, испытываемые вакцины, как и контрольные, обладали анафилатогенными свойствами. Гистаминсенсibilизирующие свойства коклюшных вакцин были более выражены у вакцин из штаммов 626 и 676 и меньше у препарата из штаммов 33, 187 и 8.

ИЗУЧЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КОКЛЮШНЫХ МОНОВАКЦИН, ПРИГОТОВЛЕННЫХ ИЗ СВЕЖЕВЫДЕЛЕННЫХ ШТАММОВ

Х. З. МАКСУДОВА

Ташкентский научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

Широкое применение АКДС-вакцины привело к резкому снижению заболеваемости коклюшем (Захарова, 1970). Одновременно с этим рядом исследователей отмечена высокая реактогенность АКДС-препарата, приводящая к возникновению нежелательных поствакцинальных реакций (Захарова с соавт., 1973; Захарова, 1974). В значительной степени это обстоятельство обусловлено присутствием в вакцине коклюшного микробного компонента, обладающего, как известно, токсическим действием. Одним из путей решения этой проблемы является выделение и изучение иммуногенных и слабotoксических свежевывделенных коклюшных штаммов.

В лаборатории коклюшных вакцин ТашНИИВСа были приготовлены полупроизводственные серии коклюшных моновакцины из свежевывделенных штаммов 1012, 23, 919, 676, 1076, 1226. В качестве контроля испытывались моновакцины из производственных штаммов 305 и 345.

Задачей данной работы явилось изучение некоторых токсических свойств моновакцины лабораторными тестами, рекомендованными для оценки токсичности коклюшных вакцин, как то: изменение веса мышей, воздействие на куриные эмбрионы и определение стрессорного действия на белых мышах. Метод определения токсичности коклюшных препаратов по изменению веса мышей был включен в требования ВОЗ 1964 г. Нами были взяты группы мышей весом 14—15 г. по 10 экз. в каждой. За 2 часа до введения вакцины определяли групповой вес мышей. Затем внутрибрюшинно вводили коклюшную моновакцину в количестве 10 млрд. м. к. в объеме 0,25 мл. Через 24, 72 часа и на 7-е сутки после введения вновь определяли групповой вес мышей. Контролем служили интактные мыши и животные, получившие инъекцию апирогенного физиологического раствора в количестве 0,25 мл.

К концу 7-го дня после введения вакцины групповой вес (опытных и контрольных) был не ниже веса перед введением, а средняя прибавка в весе на одну мышь была не ниже 3 г. Лишь одна вакцина, приготовленная из штамма 23, показала более высокие токсические свойства (прибавка в весе на 1 мышь была 2,4 г). Таким образом, учитывая требования ВОЗ, проверенные вакцины можно считать вполне удовлетворительными по токсическим свойствам.

По данным Федоссевой (1967), наиболее чувствительной методикой определения токсичности коклюшных вакцин является проверка их на куриных эмбрионах. В своих опытах мы использовали семидневные эмбрионы. Коклюшную вакцину в дозах от 0,3125 до 20 млрд. м. к. в объеме 0,5 мл вводили в желточный мешок. На каждое разведение использовали по 10 эмбрионов и за ними наблюдали в течение 10 дней, отмечая их гибель. Величину LD_{50} подсчитывали методом Рида и Менча. Все проверенные моновакцины обладали токсическим действием на куриные эмбрионы, вызывая их гибель. Введение 20 млрд. м. к. обуславливало 100%-ную гибель. Величина LD_{50} моновакцины находилась в пределах 1,66—2,5 млрд. м. к. Также было изучено стрессорное действие коклюшных вакцин.

Белым мышам вводили внутрибрюшинно 0,5 мл вакцины, содержащих 10 млрд. м. к. На 3-и сутки мышей взвешивали, забивали эфиром: вскрывали и определяли вес вилочковой железы. Тимус-индекс представлял собой отношение веса тимуса мышей в мг к весу мышей в г.

Было обнаружено, что все моновакцины обладали стрессорным действием, и оно выражалось в снижении величины тимуса-индекса (1,6—2,8), что также находится в соответствии с литературными данными (Ковальская, 1968). Из представленных материалов видно, что коклюшные вакцины, приготовленные из свежесвыделенных высокоиммуногенных штаммов, оказались вполне удовлетворительными по токсическим свойствам и отвечают требованиям ВОЗ. Наиболее чувствительными методами выявления токсичности явились методы титрования на куриных эмбрионах и определение тимуса-индекса.

ФАГОЦИТАРНАЯ АКТИВНОСТЬ И НЕКОТОРЫЕ ЦИТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КРОЛИКОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЛИСТЕРИОЗЕ

Ю. Н. РАССАДКИН, Ю. Н. ОДИНЦОВ

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

Томский ордена Трудового Красного Знамени медицинский институт

Согласно мнению большинства исследователей (Осебольд, Сойер, 1957; Маккенес, 1962, 1964; Армстронг, Сворд, 1964; Триполитова, Борисова, 1965; Фауве, Бончауд, Деланей, 1966; Федосеев, 1969; Романова, 1972), в формировании иммунитета к листериям ведущее место принадлежит клеточным факторам защиты организма. По их мнению, устойчивость к инфекции обеспечивается фагоцитами, способными переваривать поглощенных микробов. Поскольку фагоцитарная активность лейкоцитов периферической крови в определенной степени характеризует общее функциональное состояние ретикулоэндотелиальной системы организма, ее изучение представляет значительный интерес.

В опыте на 12-и кроликах породы шиншилла, разделенных на опытную и контрольную группы, было проведено исследование динамики фагоцитарной реакции организма в течение экспериментального листериоза. Инфекция вызывалась внутрижелудочным введением через зонд односуточной культуры листерий штамма 5В в дозе 1 млрд. микробных клеток (Одинцов, Рассадкин, Перельмутер, 1971). Поглотительную способность и переваривающую активность определяли через 6, 12, 24, 48 часов и на 3, 5, 7, 9, 12, 16, 21-е сутки после заражения. Поглотительную способность оценивали при помощи индекса Гамбургера (процента активных лейкоцитов), индекса Райта (среднего числа микробов, поглощенных одним активным фагоцитом) и суммарного эффекта поглощения (СЭП) листерий лейкоцитами 1 мм³ крови (Одинцов, Перельмутер, Рассадкин, 1970; Васильев, Одинцов, Федоров, 1972). Определение переваривающей способности клеток было основано на методическом принципе, предложенном Берманом и

Славской (1958, 1959). Показателем завершенности фагоцитоза (ПЗФ) служило процентное отношение количества переваренных бактерий к общему числу поглощенных.

Вскоре после заражения количество псевдоэозинофилов, способное захватывать листерии, увеличивалось и в острый период заболевания $93,50 \pm 2,65\%$ ($p < 0,02$) — $94,50 \pm 2,30\%$ ($< 0,05$) лейкоцитов были активными. К 12-м суткам индекс Гамбургера приближался к контрольным показателям, но на 16—21-й день вновь составлял $88,33 \pm 3,71\%$ ($p < 0,05$) — $90,83 \pm 2,47\%$ ($p < 0,02$). Такой же двухфазовый характер изменений был отмечен и при определении поглотительной активности одного «усредненного» псевдоэозинофила. Уже в конце инкубации интенсивность поглощения листерий существенно увеличивалась, а в разгар инфекции значения индекса Райта еще более возрастали (максимум $8,65 \pm 0,99$ при $p < 0,01$). Снижение его до фоновых цифр на 12-е сутки сменялось вторым подъемом, приходившимся на 16—21-й день опыта. Уже спустя 24 часа после введения культуры СЭП начал резко возрастать ($p < 0,02$), и на 3—7-е сутки псевдоэозинофилы 1 мм^3 крови фагоцитировали 45781 ± 6629 — 53828 ± 7089 ($p < 0,01$) микробных клеток. При дальнейшем течении заболевания значения СЭП несколько снижались, но до конца наблюдения оставались выше контрольных цифр. Изучение завершенности фагоцитоза показало, что еще в скрытый период заболевания имело место раннее возрастание переваривающей способности лейкоцитов. Однако в разгар инфекции ПЗФ был довольно низким ($18,89 \pm 2,09$ — $20,29 \pm 1,68$, $p < 0,05$). Только с появлением в сыворотке крови специфических антител переваривающая функция клеток усилилась.

Динамика изменения поглотительной и переваривающей способности моноцитов в общих чертах была сходной с таковой у псевдоэозинофилов. В то же время максимальное увеличение поглотительной активности моноцитов (в расчете на один активный фагоцит и по данным СЭП) выявлялось несколько раньше, чем у псевдоэозинофилов (на 3-й и 5-й день соответственно). На протяжении всего периода наблюдения переваривание возбудителя заболевания в моноцитах шло менее интенсивно.

С целью изучения механизмов фагоцитарной реакции при листернозе было проведено изучение влияния сыворотки крови на функциональную активность псевдоэозинофилов и моноцитов. Опсонизирующие свойства сыворотки учитывали по

разнице поглощения листерий лейкоцитами интактного кролика-донора в присутствии сывороток, полученных от больных и здоровых животных.

Сыворотки подопытных кроликов заметно усиливали поглощение листерий псевдоэозинофилами, начиная с 24 часов после введения культуры. С развитием заболевания эта способность становилась еще более выраженной, и на 3—5-е сутки опсонифагоцитарный индекс (ОИ) был равен 2,53—2,55 ($p < 0,02$). Окончание острого периода заболевания сопровождалось снижением опсонизирующих свойств сыворотки, однако после появления в крови противолистерийных антител ОИ вновь существенно возрастал: 2,04 ($p < 0,05$)—2,65 ($p < 0,01$). Подобным же образом изменялась под воздействием сыворотки фагоцитарная активность моноцитов. Первый подъем опсонизирующих свойств сыворотки, происходящий еще до появления в крови специфических антител, сочетался во времени с высокой активностью лизоцима и комплемента (Рассадкин, Одинцов, 1973, 1974), которые, как известно, обладают способностью усиливать фагоцитарную активность лейкоцитов (Ровлей, Турнер, 1966; Бойд, 1969; Голосова, Аникина, 1972; Бухарин, Васильев, 1974).

Динамика поглощения листерий лейкоцитами хорошо коррелировала с изменениями опсонизирующих свойств сыворотки крови. Однако вряд ли можно предположить, что их фагоцитарная активность зависела от воздействия только «внешних» факторов, тем более, что в литературе имеются сведения, указывающие на повышение энзимной активности клеток при листериозе (Норч, Маккенес, 1963; Лане, Юнануэ, 1973). В дополнительном опыте на 12 кроликах мы провели исследование некоторых цитохимических показателей в лейкоцитах периферической крови после заражения листериями. Содержание гликогена в сегментоядерных клетках значительно увеличивалось еще в инкубационный период ($p < 0,01$). С клиническим проявлением заболевания цитохимический индекс достигал $201,00 \pm 12,55$ усл. ед. ($p < 0,01$) и примерно на этом уровне сохранялся до конца опыта. При окраске лейкоцитов на липиды нам не удалось выявить существенных различий между показателями опытной и контрольной групп. Активность щелочной фосфатазы, начав увеличиваться еще до появления клинических признаков заболевания, в острую фазу инфекции достигала $222,00 \pm 34,65$ усл. ед. ($p < 0,001$).

После этого ее активность несколько снижалась, а на 21-й день цитохимический индекс вновь составлял $258,83 \pm 34,65$ усл. ед. ($p < 0,001$). Подобный двухволновый характер изменений был отмечен и при определении активности пероксидазы.

Таким образом, еще в инкубационный период листерийной инфекции наблюдался подъем поглотительной активности лейкоцитов и отмечалось кратковременное усиление их переваривающей способности. Разгар заболевания характеризовался как возрастанием числа активных фагоцитов, так и еще большим увеличением их способности поглощать листерии. Однако в это время высокая поглотительная активность лейкоцитов сопровождалась снижением их переваривающей способности. Усиление переваривающей функции клеток и второй подъем поглотительной активности совпадали с появлением в крови специфических антител. Наблюдалась четкая корреляция между изменениями поглотительной активности лейкоцитов и опсонизирующими свойствами сыворотки. Высокая поглотительная и переваривающая способность клеток сопровождалась увеличением в них содержания гликогена и усилением активности щелочной фосфатазы и пероксидазы.

К ВОПРОСУ О ПРИНЦИПАХ ОРГАНИЗАЦИИ БЕЗОТХОДНОГО БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДСТВА

М. М. НЕМИРОВИЧ-ДАНЧЕНКО

Ленинградский научно-исследовательский институт вакцин и сывороток

Безотходное и бессточное производство — принципиально новая технологическая задача, основное направление технологических разработок будущего. Эта технология воспроизводит равновесные саморегулирующиеся экологические системы, тысячелетия существующие в природе, но на основе развития и усиления процессов и звеньев, дающих полезные для человечества продукты. Применение ее предполагает прекращение вредных сбросов в окружающую среду из предприятий нашей

отрасли и по принципу своей организации полностью исключает бесконтрольность в этом отношении всего производственного цикла.

Построенная таким образом искусственная экосистема является многозвенной и в основе своей замкнутой; на некоторых стадиях развития одного или нескольких звеньев она может получать ввод энергетических ресурсов в виде тепла, органических и минеральных веществ, что восполняет потери системы при периодическом или серийном выводе урожая.

Предположительно целесообразно включение в систему звеньев, имеющих различный тип питания и различные пути питательных и энергетических цепей с учетом величин скоростей синтеза основных биологических продуктов: бактерий, водорослей, бобовых и злаковых растений, рыб. Качественный состав звеньев определяется еще и потребностями системы в утилизации метаболитов, а также стремлением получить на основе продуктов метаболизма те или иные полезные вещества.

В отличие от природной (тоже многозвенной, но чаще всего смешанной — и между представителями и популяциями разных видов, родов и даже царств и внутри вида по возрасту — стадиям развития особей) искусственная система должна быть организована с максимально обособленными звеньями, материальный и энергетический обмен между которыми желательно осуществлять в промежуточных сферах путем размещения в них разделительных ячеек инертного или активного характера (мембранные устройства).

Важность обособления звеньев по видам и стадиям развития особей состоит в решении таким путем главной задачи: сочетания каждого звена по всем каналам со следующим — только в точках образования вредных или ненужных для звена, экосистемы в целом или для внешней среды продуктов по принципу «ключ—замок». В соответствии с требованиями технологической задачи размыкание цепей осуществляется на этапах, оканчивающихся выходом полезного продукта или нужной для экосистемы формы энергии.

Поэтому при разрешении вопроса о качественном составе компонентов системы и количественных соотношениях организмов того или иного вида должны быть учтены: величина и направление потоков энергии по звеньям; наличие пищевых цепей, качественная и количественная характеристика их;

тогенетическое место каждой стадии развития планируемого к включению в систему вида организма для поддержания равновесия в ней; генетическая направленность развития популяции в условиях экосистемы; возможность аппаратного управления ею или отдельными ее звеньями.

Безотходное и бессточное производство по своему охвату большого числа процессов, относящихся к различным сторонам человеческой деятельности, может быть применено только путем поэтапного внедрения в технологию результатов лабораторных опытов с последующей оценкой и глубоким анализом биологического отклика, что может гарантировать цивилизацию от получения вредных для человеческой среды и экологически устойчивых комплексов и систем.

Необходимо уже теперь все проводимые исследования в сфере разработок новых и усовершенствования существующих технологических процессов осуществлять с возможным ориентированием каждого разрабатываемого звена на включение его в замкнутую экосистему для утилизации всех выходящих каналов пищевых и энергетических цепей.

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ВОДЫ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА БАКПРЕПАРАТОВ

Т. П. ВЕТЛУГИНА, М. Я. ЧАУНИН, Т. Л. МИРЮТОВА,
Л. В. ФЕДОТОВСКАЯ, В. И. ПОЛЕЩУК

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцин и сывороток

Существенное влияние на качество бакпрепаратов оказывает вода, применяемая при их производстве. Особенно чувствительна к содержанию небольших концентраций некоторых веществ культура перевиваемых линий клеток, в связи с чем к воде, применяемой при приготовлении вирусологических питательных сред, предъявляются высокие требования в отношении ее очистки от различных ионов. Так, по данным канадских лабораторий, вода, используемая при производстве питательных сред для культур тканей, должна содержать цинка не более 0,5 мкг/л, меди — 1,4 мкг/л, свинца — 0,9 мкг/л. Существуют различные методы ее очистки, из которых наибо-

лее распространенными являются: метод деионизации (обессоливания) с помощью ионообменных смол и метод дистилляции.

Большое значение на ее качество оказывает исходная вода, поступающая на очистку, так как некоторые вещества нельзя достаточно полно удалить с помощью ионообменных смол (фенол, органические примеси), а при дистилляции концентрация таких веществ, как фенол, аммиак, имеющихся в исходной воде, увеличивается.

Нами была исследована вода, полученная по следующим схемам очистки:

Схема 1. Водопроводная вода — механический фильтр — ионообменная установка с катионитовым фильтром (КУ-2—8—чс) и анионитовым (АВ-17—8—чс).

Схема 2. Водопроводная вода — механический фильтр — ионообменная установка — дистиллятор «Элгастат» английской фирмы.

Схема 3. Водопроводная вода — механический фильтр — ионообменная установка — дистиллятор «Элгастат» — стеклянный дистиллятор чешского производства.

Исходной во всех случаях являлась вода из р. Томи, которая последовательно проходила все указанные в схемах этапы очистки.

Установлено, что по схеме 1 возможно получить достаточно высоко очищенную воду (электропроводность $3,0 \cdot 10^{-6} — 8,0 \cdot 10^{-7} \frac{1}{\text{ом (см}^2\text{)}}$), однако содержание меди в ней превышает 22 мкг/л и цинка — 1,5 мкг/л. Кроме того, в некоторых случаях, особенно в период ледохода, обессоленная вода при испытаниях на кроликах пирогенна.

По схеме 2 получена глубоко обессоленная дистиллированная вода с электропроводностью $2,0 \cdot 10^{-6} — 5,0 \cdot 10^{-7} \frac{1}{\text{ом (см}^2\text{)}}$ с содержанием меди 0,6—0,7 мкг/л и цинка — не более 0,6 мкг/л.

При последующей очистке с помощью стеклянного дистиллятора (схема 3) качество воды не только не улучшилось,

а, напротив, содержание некоторых элементов в ней значительно возросло. Так, концентрация меди и цинка повысилась до 1,5 мкг/л. В воде, полученной по всем схемам, свинец применяемыми методами обнаружен не был.

Таким образом, наилучшей схемой очистки воды можно считать схему 2. Однако применение ее при массовом производстве не дало желаемых результатов по той причине, что в исходной воде р. Томи периодически обнаруживаются фенолы в концентрации от 0,001 до 0,02 мг/л, причем повышение концентрации фенолов приходится на весенний период.

Большинство серий среды 199 и среды Игла, приготовленных с использованием воды, полученной по схемам 2 и 3, удовлетворяли требованиям МРТУ-42. Клетки (Hela, HEp-2) прикреплялись к стеклу в первые сутки после засева и в первых двух пассажах давали индекс пролиферации (ИП) не менее 4,0. Однако уже на 3-м и 4-м пассажах резко изменялась морфология клеток, появлялись признаки неспецифической дегенерации, ИП резко снижался до 2,0—1,0.

Наилучшей исходной водой для производства бакпрепаратов и особенно вирусологических питательных сред для культур тканей является вода из подземных источников, однако в связи с высокой минерализацией подача ее непосредственно на ионообменные установки приводит к быстрому падению рабочей емкости ионообменных смол и необходимости более частой и длительной их регенерации. Это в свою очередь влечет за собой значительное увеличение затрат труда и расхода химических реактивов, применяемых при регенерации.

Для предварительной очистки воды из подземных источников нами использована установка, предложенная Институтом горного дела СО АН СССР. В установке вода обрабатывается в поле постоянного электрического тока, в результате чего происходит растворение железного анода с образованием хлопьев гидроокиси железа. Последние действуют как коагулянт и, обладая большой адсорбционной способностью, связывают в агрегаты все механические примеси и частично некоторые ионы. Из электрокоагулятора вода проходит через газоотделитель и поступает на механический фильтр, где ориентирующей средой является сульфоуголь. Обработка воды в электрокоагуляторе снижает содержание в ней некоторых минералов (ионов кальция в 6 раз, магния в 6 раз, железа в 2 раза), что позволяет использовать ее для дальнейшей

очистки последовательно с помощью ионообменной установки и дистиллятора «Элгастат». Полученная по этой многоступенчатой схеме глубоко обессоленная вода имеет электропроводность $2,0 \cdot 10^{-6} - 5,0 \cdot 10^{-7} \frac{1}{\text{ом (см}^2\text{)}}$, апиrogenна, свободна от ионов свинца, содержит минимальное количество меди (0,3—0,7 мкг/л) и цинка (0,2—0,6 мкг/л).

В настоящее время эта схема очистки применяется при производстве бакпрепаратов. Для вирусологических питательных сред используется вода с электропроводностью не выше $1,5 \cdot 10^{-6} \frac{1}{\text{ом (см}^2\text{)}}$. Перевиваемые линии клеток СПЭВ, VERO, HeLa пассировались на среде 199 в 5 пассажах, а линия HEp-2 в 9 пассажах, имели ИП 4,0—7,5 и характерную для этих культур морфологию.

ПРИНЦИПЫ ПАСПОРТИЗАЦИИ ПЕРЕВИВАЕМЫХ КЛЕТОК, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ВИРУСОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Н. П. ГЛИНСКИХ, Ф. Я. ЗУСМАН, Е. А. ПЕШКОВА, Е. Л. БАУМ

Свердловский научно-исследовательский институт вирусных инфекций,
Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

Успех использования перевиваемых клеток в вирусологии во многом определяется исходными морфофизиологическими и культуральными особенностями популяции и их стабильностью в процессе длительного пассирования культуры. Консервация клеток в состоянии глубокого замораживания обеспечивает сохранение клеточных линий с заданными биологическими характеристиками в течение длительного времени, что позволяет создать значительный клеточный фонд для обеспечения вирусологических исследований (Петерсон, Штульберг, 1964).

Однако одним из условий создания фонда является паспортизация используемых в работе клеточных линий по их морфофизиологической и культуральной характеристике. Согласно творческому договору между Свердловским

НИИ вирусных инфекций, Томским НИИ вакцины и сывороток и Горьковским НИИ эпидемиологии и микробиологии начата работа по паспортизации клеток перевиваемых линий, которыми располагают институты-участники, с целью организации на базе лаборатории культивирования тканей СНИИВИ низко-температурного банка-музея аттестованных клеточных культур, необходимых для обеспечения вирусологических исследований, проводимых в этих институтах.

В настоящем сообщении изложены принципы, на основе которых проводится паспортизация перевиваемых клеток, и представлена характеристика двух линий перевиваемых клеток, подвергнутых обработке.

Разработанная схема паспорта клеточной культуры содержит сведения о происхождении, видовой принадлежности и длительности поддержания исследуемой линии в лаборатории. Обязательным условием использования клеток в экспериментах является обеспечение стерильности культуры от микоплазм и проведение контроля на присутствие агентов-контаминантов вирусной этиологии. Надежным методом выявления микоплазм-контаминантов является автордиографический контроль клеток с использованием H^3 -тимидина (Глаз, Неустроева, 1968). Постановка реакции гемадсорбции с использованием эритроцитов морской свинки обеспечивает выявление гемадсорбирующих агентов (Букринская, 1960). Метод смешанных культур используется для выделения вирус-контаминантов по ЦПД (Гаврилов с соавт., 1969). При необходимости применяется метод электронной микроскопии. Проведение периодической деконтаминации культуры от микоплазм обусловлено указанием в паспорте использованной схемы деконтаминации клеток. Это тем более важно потому, что многократное применение одного и того же антибиотика приводит к формированию устойчивости к нему микоплазм (Каган, Раковская, 1969; Глинских, Зусман, 1974).

В паспорте предусмотрено указание прописи среды роста клеток. Так как аттестуемые линии предполагается хранить в состоянии глубокого замораживания при -196° , предусматривается представление данных о длительности консервации клеток, дозе криопротектора, а также дается характеристика морфофизиологических и культуральных свойств восстановленной популяции, а именно: кратность прироста на 5—7-е сутки роста, митотическая активность на 3—4-е сутки, струк-

турная характеристика интерфазных и делящихся клеток. Кроме того, паспортом предусмотрено проведение количественной карнологической характеристики популяции с указанием модального класса клеток по содержанию хромосом; числа клеток, относящихся к модальному классу, а также максимального и минимального числа хромосом в клетках.

Для контроля видовой принадлежности культур использован метод определения изоэнзимной характеристики лактат-дегидрогеназы и глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы клеток (Гартаер с соавт., 1967, 1968; Царева с соавт., 1974).

В одном из завершающих пунктов паспорта клеточной культуры изложены результаты анализа чувствительности клеток к вирусам.

Паспортизация клеточных культур по разработанной схеме предусматривает достаточно полный анализ клеточных линий, характеризует основные моменты режима их культивирования, что обеспечивает успех использования клеток в эксперименте.

В качестве примера приводим результаты паспортизации клоновой линии клеток HeLa K-1, проведенной в СНИИВИ, и линии клеток МИО, подвергнутой анализу в лаборатории клеточных культур Томского НИИВСа. Клоновая линия клеток HeLa K-1, полученная в феврале 1972 г. в лаборатории культуры клеток СНИИВИ, прошла 70 пассажей. На 40- и 70-пассажных уровнях культура была подвергнута замораживанию. Клетки свободны от микоплазмы, что показал контроль, проведенный методами посева в агар и автордиографически с использованием H^3 -тимидина. Гемадсорбирующих агентов и спонтанной дегенерации культур в контроле не отмечено. Клетки культивировались на среде 199 с 10% сыворотки без антибиотиков, доза посева клеток на пробирки 100—120 тыс./мл, на матрасы — 40—60 тыс./мл. Кратность прироста клеток на 5—7-е сутки 8—10, митотический индекс на 3-и сутки — 35—40%, число гигантских и многоядерных клеток — до 9%, процент аномальных форм митоза — 7—8%. Клетки характеризуются А типом подвижности изозимов Г-6 ФДГ и свойственными ЛДГ изоферментами, к модальному классу хромосом, который равен 61—65, относятся 47,2% клеток, минимальное и максимальное число хромосом в кариотипе — 41—73. Культура использована в работе с арена-вирусами, вирусами группы ЕСНО и Коксаки.

Клетки МНО, выделенные в лаборатории культуры тканей Московского НИИВПа, привезены в лабораторию культуры тканей ТомНИИВСа в марте 1975 г. Клетки прошли 40 пассажей, после чего были отправлены для консервации в СНИИВИ. Контроль на наличие микоплазм методом посева на агар отрицателен, методом автораднографии показал наличие микоплазм. Гемадсорбирующих агентов и спонтанной дегенерации культур не обнаружено. Клетки культивировались на среде следующего состава: 199 — 45%, Игла — 45%, сыворотка крупного рогатого скота — 10%, пенициллин и стрептомицин — по 100 ед/мл. Доза посева клеток на пробирки — 100—120 тыс./мл, на матрасы — 50—80 тыс./мл. Кратность прироста клеток на 5—7-е сутки — 5—6,5, митотический индекс на 4-е сутки — 40%, число гигантских многоядерных клеток — до 7,5%, аномальных митозов — 13%, к модальному классу хромосом, который равен 96, относятся 50% клеток минимальное и максимальное число хромосом в карiotипе — 48—134. Культура использовалась в работе с некоторыми арбовирусами и аренавирусами.

ОПЫТ ПОЛУЧЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР ИЗ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ ЧЕЛОВЕКА

Г. Г. КОЛЕСНИКОВА

Свердловский научно-исследовательский институт вирусных инфекций

Первично трипсиинизированные клеточные культуры и полуперевиваемые штаммы клеток находят широкое применение в вирусологии как для проведения экспериментальных работ, так и для производства вакцины и их контроля. В литературе описаны методы приготовления первичных культур, изучено влияние различных факторов на дезагрегацию тканей и зависимость характера роста клеток от состава питательных сред (Дульбекко, 1954; Доссер, 1961; Мерцлима, 1969). Однако наличие достаточно большого количества модификаций метода Янгнера (1954), используемых для получения однослойных культур, затрудняет выбор оптимального метода их приготовления и режима культивирования. Поэтому в настоящей

работе представлены данные оптимальных условий по получению первично трипсицизированных клеток фибробластов эмбриона человека (ФЭЧ) и легкого эмбриона человека (ЛЭЧ), отработанные в нашей лаборатории, а также дана характеристика этих клеток при длительном субкультивировании.

Для получения клеток использовали эмбриональные ткани в виде свежих стерильных соскобов 7—12-недельных зародышей человека. Эмбрионы брали только от женщины, не имеющихотягощенного анамнеза. Полученный материал отмывали в растворе Хэнкса с повышенной концентрацией антибиотиков (пенициллин — 600 ЕД/мл, стрептомицин — 400 мкг/мл).

Кожно-мышечную и легочную ткань отбирали в отдельные колбы, промывали свежими порциями раствора Хэнкса, измельчали и подвергали трипсицизации, используя при этом 0,25%-ный раствор трипсина фирмы «Дифко». Выход клеток с 1 г ткани оценивали в зависимости от срока фильтрации трипсина, температуры, длительности и кратности трипсицизации.

Оценку роста клеток проводили по скорости и характеру формирования монослоя.

Клетки ФЭЧ выращивали на 0,5%-ном растворе гидролизата лактальбумина с добавлением 10% бычьей сыворотки. Для культивирования клеток ЛЭЧ использовали несколько вариантов сред, составленных из различных пропорций среды Игла, 0,25%-ного раствора гидролизата лактальбумина, среды 199, телячьей и бычьей сывороток. Пересев клеток проводили по мере формирования монослоя через каждые 5 дней. Для съема клеток использовали 0,5%-ный раствор трипсина. Рассев клеток проводили в соотношении 1:2—1:3.

Для морфологического анализа и определения митотической активности культур клетки выращивали на покровных стеклах, фиксировали смесью из 96%-ного этилового спирта и ледяной уксусной кислоты в отношении 3:1 и окрашивали гематоксилином и эозином. Проводили кариологический анализ клеток.

Общезвестно, что наибольшей биологической активностью обладают свежеприготовленные растворы трипсина. Проведенные опыты подтвердили это положение и позволили установить, что целесообразно использовать трипсин не

позднее 5—6 недель после фильтрации, сохраняемый при температуре 4—6°.

Существенное влияние на выход клеток с 1 г ткани оказывает температура трипсинизации и время контакта ткани с трипсином. Полученные данные показали, что оптимальной температурой трипсинизации является 32—34°. При прочих равных условиях максимальный выход клеток с 1 г ткани получен при трипсинизации в 3 цикла с длительностью каждого из них — 30 минут.

В ходе работы был получен ряд клеточных штаммов легких эмбриона человека, для культивирования которых оптимальной оказалась среда Игла с двойной концентрацией аминокислот и витаминов с добавлением 10% телячьей сыворотки, и штамм клеток фибробластов эмбриона человека, культивируемый на 0,5%-ном растворе гидролизата лактальбумина с 10% нативной бычьей сыворотки.

Пролиферативная активность штамма клеток ФЭЧ на первых трех пассажах была несколько выше, чем у клеток ЛЭЧ. После третьего пассажа пролиферативная активность тех и других клеток была одинаковой и составляла 2—2,5 раза на 5-е сутки роста. Продолжительность активной фазы роста этих штаммов на среде Игла была до 20—25 пассажей.

На равных пассажах все изученные штаммы формировали монослой, состоящий из фибробластоподобных клеток, среди которых встречались эпителиоподобные элементы. Митотическая активность клеток в этот период на 2—3-е сутки культивирования для ЛЭЧ была равна 4—6‰, а для ФЭЧ — 6—10‰. К 4—5-м суткам роста этот показатель увеличился соответственно до 15—18 и 18—25‰. После 8—9 суток роста митотически делящихся ядер почти не встречалось.

На всех сроках культивирования обоих видов культур в клеточном слое имеется значительный процент клеток, содержащих ядра неправильной формы (лопастные, почкующиеся, фрагментированные). По мере пассирования культур увеличивалось количество многоядерных клеток. Полученные результаты соответствуют данным, описанным Орловой (1961) и Хесиным (1967).

Карниологический анализ штаммов ЛЭЧ 11—12 и 20—22-пассажного уровня показал, что количество клеток с диплоидным набором хромосом составляло 82—85% популяции.

Первичные культуры и клеточные штаммы были использованы в работе вирусологических лабораторий. Опыты с клеточными культурами ЛЭЧ выявили высокую чувствительность их к аденовирусу типа 7 и респираторно-синцитиальному вирусу (штамм Long). Кроме того, клеточный штамм ЛЭЧ был использован в работе с вирусом ЕСНО-3 и позволил получить накопление гемагглютининов в титре 1:128—1:256. Культура клеток ФЭЧ использована для определения гемагглютинирующей активности вирусов ЕСНО-6, 7, 11, 12. Способность клеток обеспечивать накопление гемагглютининов вирусов этой группы до 8-го пассажа не отличалась от клеток первичной культуры. При использовании культуры 8—13 пассажей (срок наблюдения) было отмечено некоторое понижение гемагглютинирующей активности испытанных вирусов.

Таким образом, первичные культуры и клеточные штаммы, полученные по нашему методу, могут быть использованы в практике вирусологических исследований.

ИММУНОХИМИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЛЕЧЕБНОГО ПРЕПАРАТА КОЛЛАГЕНАЗЫ, ПОЛУЧЕННОГО ИЗ КЛ. ГИСТОЛИТИКУМ

Т. И. ЗАМЫСЛОВА

Ленинградский научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

В Ленинградском научно-исследовательском институте вакцины и сывороток разработан полупроизводственный метод получения ферментного препарата коллагеназы бактериального происхождения, предназначенного для лечения рубцовых образований при ожогах и других заболеваниях, сопровождающихся избыточным образованием коллагеновых волокон.

В настоящем сообщении представлены результаты иммунологической и иммунохимической оценки очищенного препарата коллагеназы. Для изучения иммуногенных свойств опыты были поставлены на кроликах породы шиншилла. Всех животных разделили на три группы. Первая группа получала

фермент с полным адьювантом Фрейнда, вторая — фермент, сорбированный на гидроксиде алюминия, третьей, контрольной, группе вводили фермент без стимулятора иммуногенеза. Все животные были иммунизированы пятикратно по единой схеме возрастающими дозами препарата с интервалом 7 суток. Через 7, 14, 30 суток после пятой инъекции в сыворотках животных определяли антиколлагеназу по нейтрализующему действию сывороток в отношении стандартного количества фермента.

Установлено, что наибольшее количество антител накапливалось при иммунизации животных коллагеназой с полным адьювантом Фрейнда; коллагеназа, вводившаяся без стимулятора, обладала слабыми антигенными свойствами.

Иммунохимические свойства изучали методами иммуноэлектрофореза и микропреципитации в агаровом геле. Иммуноэлектрофоретический анализ, проведенный в агарозе в ацетатном (рН 5,6) и веронал-мединаловом (рН 8,6) буферах, показал, что данный препарат обладает слабой электрофоретической подвижностью с небольшим смещением в сторону катода. При этом были выявлены две линии преципитации, в то время как необработанные препараты давали три-четыре линии.

Полученные результаты свидетельствуют, что коллагеназа, очищенная по методу ЛенНИИВСа, обладает достаточно высокой степенью чистоты и слабыми иммуногенными свойствами, и по этим тестам пригодна для лечебных целей.

ВИДОВАЯ ПРИНАДЛЕЖНОСТЬ КОЛЛАГЕНА И АКТИВНОСТЬ КОЛЛАГЕНАЗЫ КЛ. ГИСТОЛИТИКУМ

С. Н. РУМЯНЦЕВ, Т. И. ЗАМЫСЛОВА, В. О. РОЖДЕСТВЕНСКАЯ

Ленинградский научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

Препараты коллагеназы могут быть использованы при терапевтических мероприятиях для лизирования коллагеновых волокон при избыточном образовании рубцовой ткани в организме, а также при экспериментальных исследованиях по биохимии коллагеновых белков.

Изучено действие коллагеназы кл. гистолитикум на препараты коллагена-проколлагена, полученные из кожи и сухожилий крысы, кролика, крупного рогатого скота и морской свинки путем экстракции цитратным буфером рН 3,9—4,1 по методу Строчицкого и др. (1952).

Ферментная активность коллагеназы, полученной по методу ЛенНИИВСа (серии 31, 31а, 32, 33, 34), определялась растворением проколлагеновой пленки и выражалась в коллагеназных единицах (КЕ) в сравнении с аналогичными препаратами зарубежных фирм (ЧССР, ФРГ и США). За одну коллагеназную единицу принимали наименьшее количество фермента, которое лизировало проколлагеновую пленку площадью 1,5 мм² (2 мг белка). Установлено, что названная коллагеназа обладает неодинаковой активностью по отношению к проколлагену различных видов животных. Для растворения проколлагенов равной площади (1,5 мм²) с одинаковым содержанием белка (2 мг) требуется разное количество фермента.

Коллагеназа одинаково активно растворяла проколлагеновые пленки морской свинки и крысы и несколько меньше — крупного рогатого скота. Кроличий проколлаген оказался значительно более устойчивым к действию коллагеназы. Активность испытанных препаратов по отношению к проколлагену этого вида была в 2—5—10 раз меньше. Выявленные различия обусловлены, по-видимому, тем, что коллагены испытанных видов животных отличаются по аминокислотной композиции.

НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ ИЗУЧЕНИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СВОЙСТВ СРЕД В ДИНАМИКЕ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ

А. И. КУЗИН

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцины и сывороток

Изучение электрических свойств (проводимость, диэлектрическая проницаемость, область дисперсии) антигенов, ан-

тител и эритроцитов в процессе их взаимодействия может дать возможность автоматизации методов постановки серологических реакций, что позволит проводить их быстро и с высокой точностью.

Применительно к реакциям вирусной гемагглютинации и торможения гемагглютинации вариации электрических параметров среды будут выражаться, с одной стороны, изменением удельного объемного сопротивления взвеси эритроцитов в процессе агглютинации из-за изменения значения фактора формы в уравнении Максвелла и, с другой стороны, возрастанием времени релаксации вследствие увеличения размеров эритроцитарных конгломератов. Изменение времени релаксации наиболее ярко выражено, поскольку имеет кубическую зависимость от размера взвешенных частиц (по формуле Стокса). Сказанное, вероятно, справедливо также для реакции бактериальной агглютинации и преципитации.

В ходе реакции связывания компонента происходит разрушение эритроцитов, в результате которого емкость значительно падает и остается только активная составляющая проводимости. Высокочастотная проводимость повышается на 10—20% за счет выхода из клеток калия и гемоглобина. Кроме того, при отмирании эритроциты теряют способность поляризоваться, что выражается дисперсией диэлектрической проницаемости.

Нами получено математическое обоснование регистрации дисперсии на фиксированной частоте по одной из составляющих импеданса или по активной и реактивной составляющим импеданса в спектре частот.

Для осуществления контроля за ходом реакций нами создан специальный датчик с полупроницаемыми мембранами, который может работать с малыми объемами проб (не более 4 см³), имеет высокую чувствительность в области низких частот и позволяет применять в реакциях буферные растворы высокой проводимости.

Для измерения проводимости и диэлектрической проницаемости наилучшей, по нашему мнению, является дифференциальная схема с двумя идентичными датчиками. Такая высокочувствительная схема измерения (чувствительность — 1 мкВ) была нами собрана на основе интегрального операционного усилителя с регистрацией на осциллографе.

Наблюдение за динамикой электрических параметров серологической реакции позволит исключить трудоемкий про-

цессе титрования и сократить время качественного и количественного анализа.

ПАТЕНТНО-ИНФОРМАЦИОННАЯ РАБОТА В ТОМСКОМ НИИ ВАКЦИН И СЫВОРОТОК

Е. А. ВУЛЬФСОН, Г. М. РАТНЕР, А. С. СКОБЕННИКОВА,
Н. Н. СВИДЕРСКАЯ

Томский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт вакцин и сывороток

В последние десятилетия научно-техническая информация настолько возросла, что это привело к необходимости оказания помощи научным работникам и создания соответствующей службы. Следует также подчеркнуть, что наиболее объективной оценкой актуальности и результативности научных исследований является количество работ, выполненных на уровне изобретений. В связи с этим возникла необходимость организации также и патентной службы.

В Томском НИИВСе в конце 1971 г. был создан научно-организационный отдел с группой информации и патентной службы. В данном сообщении мы излагаем результаты работы этих групп за истекшее пятилетие.

Анализ потока научно-медицинской литературы и информация научных сотрудников о новейших данных не вызывали серьезных затруднений, так как институт располагает большой библиотекой с фондом отечественной и иностранной литературы (книги, журналы) около 30000 экземпляров. Кроме того, служба информации пользуется богатейшим фондом научных библиотек Томского государственного университета и медицинского института, а также межбиблиотечным абонементом библиотек Москвы. Одновременно многие научные сотрудники и их руководители имеют опыт работы с научной литературой.

Сведения о новейшей литературе исследователи получали из трех источников: 1) материалов, выставляемых в день информации, который проводился один раз в 2 недели в научной части института и один раз в месяц на предприятии;

2) постоянно обновляемой выставки литературы; 3) информационных бюллетеней, выпускаемых для научных лабораторий и производственных цехов института один раз в 2 месяца, в которых сконцентрированы все материалы, имеющие самое непосредственное отношение к научной и производственной деятельности института.

Патентная работа в условиях Томского НИИВСа была затруднена, во-первых, в связи с отсутствием патентного фонда не только в институте, но и в городе, во-вторых, из-за отсутствия патентных знаний у научных сотрудников, что вело к преждевременной публикации результатов патентоспособных исследований.

В результате напряженной работы в институте был скомплектован патентный фонд, включающий: 1) аннотированную картотеку отечественных и зарубежных (США, Великобритания, Франция, ФРГ, Япония, Швейцария) изобретений — более 6000 экземпляров; 2) копии описаний изобретений тех же стран в виде ксерокопий и микрофильмов — около 1500 экземпляров, для чего был осуществлен ряд командировок отдельными сотрудниками и бригадой, в которые входили научный сотрудник, переводчик и патентовед, в Москву, Ленинград и Новосибирск.

Научные сотрудники института обучены методике проведения патентных исследований на всех стадиях научно-исследовательской работы, начиная с планирования и кончая отчетом.

В течение 1971—1975 гг. подано 18 заявок на изобретение и получено 4 положительных решения. С 1975 г. в институте введена форма планирования предполагаемых изобретений в соответствии с тематикой научно-исследовательских работ.

СОДЕРЖАНИЕ

История института

Г. Е. Синельников. Основные этапы развития Томского НИИ вакцины и сывороток (1906—1976 гг.)	3
Ю. В. Федоров. Становление и развитие вирусологии в Томском научно-исследовательском институте вакцины и сывороток	9
С. П. Карпов. Разработка препаратов против клещевого энцефалита в Томском институте вакцины и сывороток	13
С. М. Прегер. Развитие сывороточного производства в Томском институте вакцины и сывороток	16
Н. Г. Турлянцева. К вопросу развития гамма-глобулинового производства в Томском институте вакцины и сывороток	19

Вирусные препараты

А. А. Смородицев. Итоги и перспективы вакцинопрофилактики вирусных инфекций	22
Г. Н. Хлябич. Перспективы иммунопрофилактики оспы в СССР в связи с реализацией программы ликвидации оспы в мире	24
С. Г. Дзагуров. Пути совершенствования средств специфической профилактики инфекционных болезней в связи с проблемой биологической стандартизации	27
З. Ф. Абрамова, А. А. Воробьев, Г. Т. Патрикеев. Принципы приготовления энтеральных форм вакцинных препаратов	30
Ф. Г. Исупов. Некоторые проблемы разработки химических вирусных вакцин	32
Е. Н. Левкович. Новое в проблеме специфической профилактики клещевого энцефалита	34
Л. А. Федорова, Р. А. Видилина, Г. П. Прасолова. Опыт производства вакцины клещевого энцефалита	37
В. В. Погодина. Генетика вакцинных штаммов арбовирусов и перспективные направления ее развития	39
В. С. Ерофеев, С. П. Карпов. Некоторые генетические маркеры вирусов комплекса клещевого энцефалита и их значение для контроля аттенуации	43

А. В. Дубов, Т. С. Горожанкина, А. Я. Дубова, А. П. Головкина, В. Я. Постникова, Л. Б. Козлов. Характеристика биологических свойств дополнительно аттенуированных вариантов вируса комплекса клещевого энцефалита	45
Р. Г. Соляник. Основные итоги проведенных исследований по разработке аттенуированных штаммов вируса восточного энцефаломиелиита лошадей в Томском НИИВСе	47
Т. А. Савельева. Хроматография вируса восточного энцефаломиелиита лошадей (ЕЕЕ) и его аттенуированных вариантов на колонках с ДЭАЭ-целлюлозой и фосфатом кальция	49
В. Д. Подоплекин. Экспериментальная изменчивость вируса венесуэльского энцефаломиелиита и конструирование живой вакцины	51
Д. П. Дремов. Итоги патоморфологического изучения вирулентности аттенуированных вариантов арбовирусов, полученных в Томском НИИ вакцины и сывороток	53
Б. К. Гирс. Изменения в сосудах головного и спинного мозга обезьян при экспериментальной острой и подострой инфекции, вызванной штаммами вируса комплекса клещевого энцефалита с различными биологическими свойствами	56
Б. Ф. Семенов, В. В. Хозинский. Изучение клеточного иммунитета при вакцинации экспериментальных животных против флавивирусных инфекций	59
О. А. Васильева. Проблемы вирусной аллергии в Томском НИИВСе	60
Н. Х. Ставицкая. Сенсibilизирующие свойства вируса клещевого энцефалита	64
С. К. Переходова. Вирусная сенсibilизация лимфоидных клеток, как один из критериев оценки патогенных свойств штаммов вируса клещевого энцефалита	67
Т. Л. Мирютова, Е. А. Пешкова. Действие арбовирусов с различной степенью патогенности на физиологическое состояние клетки	69
Ю. Ю. Резникова, В. Д. Рябинович, Н. М. Благовещенская, Л. В. Зарубина, В. В. Кучин, В. Н. Милютин, Г. А. Татарская, В. В. Тимченко, Т. Д. Янович. Разработка и применение лечебно-профилактических и диагностических препаратов при крымской геморрагической лихорадке	72
Л. Е. Подоплекина. Изучение аренавирусов и опыт разработки диагностических препаратов в Томском институте вакцины и сывороток	75
Г. Н. Хлябич, Г. М. Степанов, А. А. Сумароков, Л. Н. Запорожцев. Характеристика ряда экономических показателей производства оспенных вакцин	77
С. С. Мареникова, Н. Н. Мальцева, В. Г. Никулина, Н. А. Хабахпашева. Препараты для быстрой и ускоренной диагностики оспы и некоторых других везикулярных инфекций, пути их усовершенствования	82
В. Г. Пехенько, А. П. Степанова. Усовершенствование оспенных препаратов в Томском институте вакцины и сывороток	84
Г. А. Короленко, И. Н. Федотова. Разработка оспенных препаратов из штамма ЭМ-63	85
П. А. Тиков. Зависимость между дозой заражения телят и	

урожаемостью вируса осповакцины при использовании штамма ЭМ-63 различных генераций	88
Т. В. Дорохина, А. А. Воробьев, Г. Т. Патрикеев, Е. М. Земсков. Экспериментальное обоснование пероральной иммунизации живой ассоциированной оспенно-чумной бивакциной	90
А. И. Полозов, В. И. Соболевский, А. А. Воробьев, Г. Т. Патрикеев, Л. И. Зеленский. Применение вируса оспы обезьян для оценки напряженности иммунитета против натуральной оспы в опытах на макака резус	91
В. И. Осипов, А. А. Воробьев, Е. М. Земсков, Г. Т. Патрикеев. Изучение процесса проникновения микроорганизмов и их антигенов через анатомо-физиологические барьеры организма лабораторных животных в свете некоторых массовых способов иммунизации	93
Л. Г. Невская, П. А. Тиков, М. В. Ройниа. Отдаленные результаты наблюдения за вакцинами, приготовленными с заранее заданной (расчетной) активностью	94
П. И. Емельянов, В. Д. Неустроев, Ю. С. Деркач, В. И. Стомба. Методические подходы к прогнозированию потребности в диагностических препаратах	96
В. В. Близинок, И. Г. Перескокова. Препараты из асцитической жидкости крыс, иммунизированных некоторыми арбовирусами	97
М. С. Слуцкая, В. М. Минаева, Т. Г. Пархоменко. Изучение влияния некоторых биологических факторов на резидуальную инфекциозность комплексов вирус — антитело при клещевом энцефалите	100
Н. Б. Черный. Концентрация вируса лимфоцитарного хориоменингита полиэтиленгликолем	103

Сыворотки и анатоксины

Ю. Б. Лукниц, Г. А. Баталова, А. В. Корнилова. Пути и методы повышения качества анаэробных антитоксических лечебно-профилактических сывороток	105
Г. Е. Спирельников, К. Т. Козлова, Т. А. Васильева, С. А. Соловьева. К вопросу усовершенствования производства противоботулинической сыворотки	106
С. М. Прегер, Н. Х. Музафарова, Г. Е. Спирельников. Итоги изучения свойств противоботулинической сыворотки из крови крупного рогатого скота	110
Т. А. Васильева. Методические подходы к разработке соотношений антигенов при получении поливалентной сыворотки	114
Л. И. Шаганов, А. А. Деметьева. Ускоренный метод получения высокотитражных моновалентных противоботулинических сывороток типов А и В	117
В. Д. Никитин, М. Т. Никитина, В. И. Трубицина, В. П. Васильев, Р. К. Сучкова. Получение стабильно высокоактивных противогангренозных поливалентных сывороток в условиях производства Московского НИИВСа им. И. И. Мечникова	119
Б. И. Райкис, Н. И. Астахова, Л. И. Шаганов. К вопросу стимуляции иммуногенеза у лошадей-доноров	

пнячной сыворотки	120
О. В. Кулешова, М. В. Ярунцева. Свойства противостолбнячной сыворотки в зависимости от технологии очистки и концентрации	122
В. Н. Мельников, Ю. А. Шаронов, В. П. Царанкин, А. А. Пушкарев, М. И. Ройтман. Перспективы создания препарата для экстренной ревакцинации против ботулизма, газовой гангрены и столбняка	125
Н. Б. Альбицкая. Управление ростом и токсинообразованием кл. ботулиnum типов А и В	128
Р. Г. Дашкин, В. П. Царанкин, А. А. Пушкарев, В. Н. Мельников. Применение лиофилизированных культур кл. ботулиnum типов А и Е для изготовления очищенных анатоксенов	130
В. П. Царанкин, В. Н. Мельников. Стабильность антигенных и иммуногенных свойств очищенных ботулинических, гангренозных и столбнячного анатоксенов при хранении	132
Л. П. Сычева. Гель-хроматография ботулинического, частично обезвреженного, концентрированного токена типа Е на сефадексе Г-200	134
М. А. Каменева, Н. П. Ефимова. Изучение компонентного состава токсинов в производстве анатоксина эдематисе	135
О. В. Рождественская. Динамика токсической и ферментной активности производственных штаммов столбнячной палочки	138
В. П. Коровина, Е. В. Чикишев, Л. А. Сазонова, И. Ш. Вайсман. Функциональная морфология производственного штамма 471 возбудителя столбняка в динамике развития популяции (возможность стимулирования токсиногенеза и спорообразования).	140
И. П. Васильева. Итоги получения и изучения химической сорбированной брюшнотифозной вакцины с секстаанатоксином	142
Ю. А. Шаронов, В. Н. Мельников, В. Ш. Фокина, В. Я. Яковлева. Опыт изготовления сухой сорбированной брюшнотифозной вакцины с секстаанатоксином	144
А. Н. Селезнева. Изучение стабильности и свойств сухой сорбированной химической брюшнотифозной вакцины с секстаанатоксином в процессе хранения	146
Г. И. Карпухин, Р. А. Андриевская, Э. Г. Лукьянова, Н. И. Шапиро, И. Д. Шнац, И. П. Васильева, Г. Ф. Ермаков, Е. Г. Осипова. Экспериментальное изучение иммунологических свойств химической брюшнотифозной перекрестной вакцины с секстаанатоксином	147
Л. А. Диденко. Изучение безвредности и иммунологической эффективности тифозно-ботулинической А, В, Е-тетравакцины, содержащей различные сорбенты	149
Н. Б. Егорова, И. В. Мирошниченко, В. Н. Ефремова, М. А. Гладус, А. И. Сердцев, Н. И. Тарабарова. Эффективность сухих несорбированных анатоксенов при разных методах вакцинации	151
Б. В. Новокрещенов. Экспериментальное изучение ассоциированной и комплексной иммунизации против вирусных и бактериальных инфекций	153

П. С. Барбан, В. М. Минаева, А. Н. Пантюхина, М. Г. Старцева. Изучение серологической активности и вируснейтрализующих свойств гамма-глобулина против клещевого энцефалита ГАВ фрагментов, выделенных из него методом тепловой обработки	156
Л. Н. Полещук. Содержание биотина и пантотеновой кислоты в питательной среде в зависимости от времени года	159

Некоторые вопросы микробиологии

Б. Г. Трухманов. Принципы конструирования и применения ассоциированных вакцин	161
Г. В. Корнилова, А. П. Андреев. Природно-очаговые инфекции в районах интенсивного промышленного освоения Западной Сибири	163
Р. Н. Жилкина, Ж. Н. Романова. Клеточные и гуморальные факторы защиты организма при иммунизации сорбированными гангренозными моноантигенами и диванатоксином	166
Н. И. Шингулина. Иммунологическая реактивность организма при ревакцинации препаратами, пригодными для аэрозольного и подкожного методов введения	169
Л. Л. Теплякова. Реакция организма на введение уменьшенных доз брюшнотифозной вакцины с секстаанатоксином	171
Т. С. Федорова. Обмен веществ при иммунизации вирусными антигенами	173
В. Е. Яворовская, А. С. Саратиков, Т. П. Прищеп, М. А. Лутцева, В. Н. Киселева, С. К. Благерман, А. Н. Костомаха. Антивирусные вещества, синтезируемые клетками под влиянием некоторых противовоспалительных средств	176
С. Н. Шапарева. Неспецифические факторы иммунитета при введении различных адьювантов	178
Х. З. Максудова. Анафилактогенные и гистаминсенсibilизирующие свойства коклюшных моновакцин из свежесделанных штаммов	181
Х. З. Максудова. Изучение некоторых токсических свойств коклюшных моновакцин, приготовленных из свежесделанных штаммов	183
Ю. Н. Рассадкин, Ю. Н. Одинцов. Фагоцитарная активность и некоторые цитохимические изменения в лейкоцитах периферической крови кроликов при экспериментальном листериозе	185
М. М. Немирович-Данченко. К вопросу о принципах организации безотходного бактериологического производства	188
Т. П. Ветлугина, М. Я. Чауини, Т. Л. Мирютова, Л. В. Федотовская, В. И. Полещук. Усовершенствование технологии получения воды для производства бактериальных препаратов	190
Н. П. Глинских, Ф. Я. Зусман, Е. А. Пешкова, Е. Л. Баум. Принципы паспортизации перевиваемых клеток, используемых в вирусологических исследованиях	193
Г. Г. Колесникова. Опыт получения клеточных культур из эмбриональных тканей человека	196
Т. И. Замыслова. Иммунохимическая оценка лечебного препарата коллагеназы, полученного из кл. хистолитикум	199

С. Н. Румянцев, Т. И. Замыслова, В. О. Рождественская. Видовая принадлежность коллагена и активность коллагеназы кл. гистолитикум	200
А. Н. Кузин. Некоторые вопросы изучения электрических свойств сред в динамике серологических реакций	201
Е. А. Вульфсон, Г. М. Ратнер, А. С. Скобенинкова, Н. Н. Свидерская. Патентно-информационная работа в ТомНИИ вакцины и сывороток	203

**РАЗРАБОТКА ПРЕПАРАТОВ
ПРОТИВ ВИРУСНЫХ И АНАЭРОБНЫХ ИНФЕКЦИИ**

Томск, Изд-во ТГУ, 1976 г. 210 с.

Главный редактор В. С. Сумарокова
Технический редактор Р. М. Подгорбунская
Корректор В. А. Малаховская

К302166. Сдано в набор 23/1-76. г. Подписано к печати 28/V-76 г.
Бумага писчая № 1. Формат 60×84 1/16;
п. л. 13,1; уч.-изд. л. 12,5; усл. п. л. 12,2.
Заказ 834. Тираж 1000. Цена 1 руб. 25 коп.

Издательство ТГУ, Томск, 29, ул. Никитина, 17
Асиновское полиграфическое объединение, ул. Проектная, 22

Цена 1 руб. 25 коп.