

615.37

В149

# ВАКЦИНЫ

# И

ВЫПУСК

# 7

1973

# СЫВОРОТКИ

# ВАКЦИНЫ И СЫВОРОТКИ

*Республиканский межведомственный сборник*

Выпуск 7



mm

Сборник посвящен теоретическим и практическим проблемам вакцинно-сывороточного дела. В нем рассматриваются вопросы создания новых лечебно-профилактических и диагностических препаратов (против туберкулезной инфекции, для диагностики кишечных инфекций и др.), отражены результаты исследований, направленных на изыскание интерфероногенов растительного происхождения, а также на разработку методов улучшения существующих моно- и ассоциированных препаратов. Широко освещаются вопросы изучения эпидемиологической эффективности различных вакцин (АКДС, противогриппозной, полиомиелитной и др.) и влияния их на биохимические и иммунологические процессы в организме. Приводятся различные методы получения антигенов и результаты исследования их влияния на формирование иммунитета.

Сборник рассчитан на практических врачей и научных работников, занимающихся вопросами микробиологии.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

О. С. Белая (зам. отв. редактора), Г. И. Волчанецкая (отв. секретарь), Е. Г. Гордиенко, О. И. Емельянова, Б. Л. Палант, В. В. Смирнов, Л. В. Фиженко, Г. П. Черкас (отв. редактор).

## К оценке иммунобиологического значения эритроцитов при туберкулезе

*И. Л. Дикий, Г. П. Черкас. Харьков*

Несмотря на более или менее достаточную клинико-лабораторную изученность патогенеза туберкулезной инфекции, в настоящее время не существует единого мнения о специфическом влиянии туберкулезного процесса на эритропоэз в инфицированном организме.

По данным ряда авторов, туберкулез не является анемизирующим заболеванием и специфической картины крови для туберкулезного процесса вообще или для отдельных его форм не существует (Н. Н. Бобров, 1950; И. А. Кассирский, Г. А. Алексеев, 1955; Д. Н. Яновский, 1957).

Некоторые исследователи считают, что туберкулезу принадлежит этиологическая роль в патогенетически значимой анемизации инфицированного организма (Е. М. Тареев, 1948). Это подтверждается анализом известных случаев сочетания туберкулеза с заболеваниями органов кроветворения (лейкозами, эритромиелозами, лейкоидными реакциями, плазмоцитарной миеломой), а также данных о возможности сочетания диссеминированной туберкулезной инфекции со своеобразной реакцией кроветворных органов, симулирующей развитие различных анемий, в том числе острой гемолитической, эритробластической и апластической (Е. М. Тареев, 1948; О. Г. Леонов, 1964).

В связи с тем, что сторонники первого воззрения также не отрицают частоты сопутствующего туберкулезу развития анемий, разногласия заключаются, по существу, в различном подходе к оценке патогенетической специфичности этого эффекта со стороны кроветворного аппарата больного туберкулезом. Именно поэтому вопрос о закономерностях патогенетической связи анемий с динамикой развития туберкулезного процесса приобретает решающее значение для объективной оценки такого «аффективного» ответа инфицированного организма.

Существует несколько клинико-экспериментальных и теоретических гипотез о происхождении анемии при туберкулезе. Согласно

одной из них, возникновение анемии — следствие выраженности туберкулезной интоксикации. Так, оценивая клинический материал, Т. Д. Кан (1941) обнаружил явления анемии у 83%, Н. А. Шмелев (1944) — у 40%, а О. В. Глебович (1955) — у 70% больных с выраженным синдромом туберкулезной интоксикации. Зависимость анемизации от степени туберкулезной интоксикации подтверждается, в частности, клиническими данными Х. Ш. Арслановой (1960), которая показала, что независимо от выраженности клинической картины туберкулеза насыщенность артериальной крови кислородом у больных ниже, чем у здоровых (соответственно 83—90% и 95—96%). Эти сведения приобретают особое значение, если учесть тот общеизвестный факт, что даже в случае благоприятного клинического развития туберкулезного процесса синдром специфической интоксикации всегда проявляется в той или иной степени.

В связи с тем, что клиника туберкулезной интоксикации патогенетически предопределена патогенными особенностями микобактерий туберкулеза и продуктов их метаболизма, вывод об этиопатогенетическом происхождении анемии при туберкулезе, а также о значении этого гематологического сдвига как одного из типичных клинико-морфологических показателей данного заболевания представляется логически обоснованным. По вопросу о природе анемизирующего взаимодействия микобактерий туберкулеза с эритроцитами инфицированного организма существует несколько точек зрения. Одна из них — гипотеза о центральном происхождении анемии при туберкулезе — основывается на том, что нервы костного мозга чрезвычайно чувствительны к токсической информации от микобактерий туберкулеза. Именно поэтому уже на ранних стадиях развития туберкулезного процесса в них отмечаются сначала реактивные, а затем и дегенеративные изменения (В. П. Осинцева, 1960), что в конечном итоге приводит к анемии. Согласно другой точке зрения (С. С. Касабьян, 1961; А. Н. Комиссаров, В. К. Полянко, 1954), анемия при туберкулезе — результат ускоренного разрушения эритроцитов периферической крови вследствие снижения их резистентности под влиянием токсических фракций микобактерий туберкулеза.

Следует отметить, что оба эти воззрения не только не исключают, но, напротив, по нашему мнению, дополняют друг друга, ибо отмеченная, с одной стороны, высокая «дисфункциональная» чувствительность кроветворных органов к «туберкулезному токсикозу», а с другой, — способность продуктов метаболизма микобактерий туберкулеза снижать резистентность эритроцитов скорее всего реализуются во взаимосвязи и в своей совокупности представляют фактор, который обеспечивает закономерную анемиза-

цию организма, инфицированного вирулентными микобактериями туберкулеза.

Таким образом, анализ данных литературы позволяет сделать следующий вывод. Органы гемопоэза, а также функционирующие эритроциты восприимчивого к туберкулезу организма чрезвычайно чувствительны к токсическому действию бактериохимически определяющих конституентов бактериальной клетки вирулентных микобактерий туберкулеза и к продуктам жизнедеятельности микроорганизма. Вследствие этого развитие анемии при туберкулезе неизбежно, и проявление ее с полным основанием можно использовать не только как показатель активности патологического процесса или выраженности туберкулезной интоксикации, но и как специфический критерий иммунобиологической неподготовленности макроорганизма к предотвращению патоморфологического становления туберкулезного процесса.

Отсюда закономерно возникает вопрос, требующий, на наш взгляд, специального обсуждения: является ли гемолитическая податливость только закономерным следствием эволюционной несовершенности или биологической компрометации эритроцитов восприимчивого к туберкулезу макроорганизма? Иными словами, исключена ли защитно-приспособительная целесообразность анемии при туберкулезе?

Значение железа в биологических процессах, в соответствии с современной точкой зрения, заключается не только в том, что оно является необходимой структурной составной гемоглобина, но и в его роли как вещества, принимающего непосредственное участие в структурной организации целого ряда биокатализаторов из класса сложных белков, в том числе каталазы, пероксидазы, цитохрома и т. д., т. е. в структурной организации дыхательных ферментов (С. С. Касабьян, 1961). В специальной литературе имеются отдельные сообщения не только о цитотоксической активности ионного железа и его солей, за исключением железа, заключенного в порфириновую оболочку (Ф. Р. Дунаевский, 1944), но и о «шлаковом» — как отбросе клеточного метаболизма — происхождении повышенного содержания железа в тканях (Gellersstedt, 1933). Однако точка зрения на роль внутриклеточно накапливающегося железа как показателя повышенной потребности клеточного элемента в дыхательных ферментах, необходимых для усиления уровня биорезистентности клетки и повышенного отправления присущей ей функции (С. С. Касабьян, 1961), представляется нам более обоснованной.

Вопрос о роли клеточного железа в патологии туберкулезного процесса до настоящего времени специально не изучался и остается практически не выясненным. Тем не менее даже на основании

отдельных сообщений представляется возможным судить о «проективной направленности» этого биохимического сдвига в клетках восприимчивого к туберкулезу организма. Так, цитохимический анализ ферронасыщенности паренхиматозных органов и тканей при туберкулезе позволил установить варьирующую зависимость этого цитологического признака от клинической тяжести туберкулезного процесса, выраженности туберкулезной интоксикации, а также от наличия в пораженных органах дистрофических и некробиотических изменений. При клинико-морфологическом прогрессировании туберкулезного процесса, при его генерализации содержание железа в туберкулезных бугорках и в перифокальных клеточных структурах органа резко уменьшается (Дятлова, 1956), С. С. Касабьян (1961) более детально раскрывает цитохимию туберкулезного бугорка: 1) железо определяется в туберкулезных бугорках преимущественно эпителиоидного характера; 2) в местах казеоза железо не обнаруживается; 3) в периферических участках, где эпителиоидные клетки вытягиваются и превращаются в фибробласты, содержание железа нарастает; 4) туберкулезные бугорки, подвергающиеся фиброзной трансформации, содержат большое количество железа.

Учитывая тот факт, что гигантским и эпителиоидным клеткам, определяющим цитологическую специфику туберкулезной гранулемы, а также гистиоцитам и фибробластам принадлежит ответственность за фагоцитоз микобактерий туберкулеза, можно предположить, что закономерно наблюдаемое накопление железа в этих клеточных элементах (Ф. Р. Дунаевский, 1944; Е. А. Моисеев, 1946; В. Г. Дятлова, 1956; С. С. Касабьян, 1961) связано с их антибактериальной (противотуберкулезной) фагоцитарной активацией. Это позволяет объяснить и отсутствие железа в продуктах казеозного распада клеточных элементов, а именно: можно предположить, что клетка, исчерпавшая свой железосодержащий биокатализаторный потенциал, становится абсолютно доступной бионекротически специфическому действию микобактерий туберкулеза. Подтверждением этой мысли может служить и цитохимически установленный С. С. Касабьяном факт реверсионного насыщения железом туберкулезных структур, вступивших в стадию фиброзной инволюции.

Таким образом, признавая влияние уровня внутриклеточного накопления железосодержащих дыхательных ферментов на фагоцитарную активность компетентных клеточных элементов и на уровень биорезистентности клеток паренхимы того или иного органа к деструктивному действию вирулентных микобактерий туберкулеза, а также учитывая ассимиляционную ограниченность, обуславливающую железodefицитность организма, можно предполо-

жить, что в условиях развивающегося туберкулезного процесса, после истощения всех резервов алиментарно поступающего железа, инфицированный организм вынужден ответить на его недостаток частичным гемолитическим сдвигом и затем использовать высвобождающееся из гемоглобина железо на структурную организацию внутриклеточных дыхательных ферментов. Представленные в специальной литературе данные о клиническом соответствии анемии организации организма острому периоду в развитии туберкулезного процесса (особая выраженность синдрома туберкулезной интоксикации, гематогенно-диссеминированное или лимфожелезистое прогрессирование первичного туберкулезного комплекса и т. д.) в какой-то мере обосновывают и подтверждают высказанное предположение.

Итак, один из возможных механизмов косвенного иммунологического участия эритроцитов в защитно-приспособительной коррекции туберкулезного процесса может заключаться в их компенсаторном гемоллизе с последующей «поставкой» биохимически активного железа, используемого инфицированным организмом как на активирование фагоцитарного процесса, так и на усиление уровня биорезистентности паренхимных клеток к патогенному действию микобактерий туберкулеза.

Следует отметить, что возникновение «компенсаторной анемии» при туберкулезе не является результатом механического разрушения эритроцитов периферической крови. Н. А. Шмелев (1959) указывает, что туберкулез чрезвычайно редко влияет на общее количество эритроцитов и поэтому анемия больных туберкулезом обусловлена не столько количественным дефицитом эритроцитов, сколько насыщенностью их гемоглобином. Анализируя эти данные, правомерно предположить, что цитологическое перераспределение изолированного из эритроцитов железа имеет «центральное» происхождение. Последнее убеждает в том, что анемию при туберкулезе действительно отличает компенсаторная иммунологическая направленность, что, однако, не исключает возможности функциональной компрометации красной крови большого туберкулезом.

Рассматривая вопрос о протективном участии эритроцитов в «патологической корреляции» (термин И. В. Давыдовского, 1969) развивающегося туберкулезного процесса, можно считать, что иммунологическое значение этих форменных элементов крови в патологии туберкулеза далеко не исчерпывается косвенным биомолекулярным влиянием, которое было теоретически показано выше. В связи с поставленной целью детализации всех иммунологических характеристик, свойственных эритроцитам, заслуживает внимания сообщение Л. Шведова (1971) об определении иммунологического состояния организма при туберкулезе. Автор, предлагая

практическому здравоохранению новый диагностический тест, положил в его основу принцип различной гемолитической чувствительности эритроцитов здорового организма и больного туберкулезом к туберкулину. Им установлено, что эритроциты больных туберкулезом во много раз более устойчивы к гемолитическому действию туберкулина, чем эритроциты здоровых людей. Эти данные на первый взгляд противоречат общепризнанному мнению об особой гемолитической чувствительности эритроцитов больного туберкулезом к туберкулину. Тем не менее они вполне правомерны.

Констатация факта гемолитической устойчивости эритроцитов к туберкулину подтверждает принципиальную достоверность одной из общеизвестных иммунологических закономерностей. В частности, при изучении механизмов, происхождения гемолитической анемии было установлено (Roth, Frumin, 1957), что тяжесть заболевания прямо пропорциональна количеству антител, содержащихся в сыворотке, и обратно пропорциональна их адсорбции на поверхности эритроцита. Более того, адсорбированные антитела повышают устойчивость эритроцитов в неблагоприятных условиях обмена. Интерпретируя этот материал применительно к данным Л. Шведова (1971), логично допустить, что и при развитии туберкулезной инфекции повышение гемолитической устойчивости эритроцитов к туберкулину является не результатом какой-то особой физиологической адаптации к токсическим продуктам обмена микобактерий туберкулеза, а лишь закономерным следствием адсорбции антител на поверхности эритроцитов.

Если этот тезис верен, то, естественно, возникает вопрос об антибактериальной специфичности антител, адсорбированных на поверхности эритроцита, ибо в таком случае можно допустить, что именно с эритроцитами больного туберкулезом, в силу присущей им адсорбционной функции, связано не только концентрирование, но и носительство специфического иммунологического ответа организма на действие микобактерий туберкулеза. Следует отметить, что с современной точки зрения на иммуноморфологическую природу приобретаемой невосприимчивости к туберкулезу эта гипотеза является необоснованной. Действительно, большинство исследователей придерживаются мнения, что развитие невосприимчивости к туберкулезу связано с направленной активностью иммунокомпетентных клеточных систем инфицированного организма. В основе же клеточного иммунитета заложена способность лимфоцитов к специфической сенсibilизации в результате их направленного контакта с антигенными фракциями этиологического раздражителя.

Еще классическими работами А. А. Богомольца (1922, 1931) по вопросу о единстве противоположностей в происхождении иммуни-

тета и анафилаксии было показано, что в основе их заложен один и тот же принцип — формирование антител для дальнейшей нейтрализации или инактивации антигена. Антитела на первом этапе формируются в клетке, а затем — при достаточно высокой продукции — попадают в кровь, где и осуществляется типичная иммунологическая реакция комплексации антигена с антителом. Если титр невысок или замедлена его динамика, антитела остаются в клетке и тогда специфическая реакция их с антигеном происходит внутриклеточно с адсорбцией и инактивацией клеточных функций (А. А. Богомолец, 1922, 1931; Р. Е. Кавецкий, 1933, 1962). Таким образом, возникновение типичной иммунологической реакции или развитие аллергической настроенности в конечном итоге находятся в прямой зависимости от полноценности антигенной характеристики этнологического агента.

Поскольку антигенная неполноценность не только изолируемых из бактериальной клетки фракций, но и самих особей микобактерий туберкулеза в настоящее время является безусловно доказанной, следует не только признать иммуноморфологическую закономерность формирования невосприимчивости к туберкулезу по анафилактическому типу, но и исключить возможность циркуляции в кровеносном русле антибактериальных или антитоксических антител, а также возможность направленной их адсорбции на эритроцитах.

Каково же в таком случае происхождение антител, фиксирующихся на эритроцитах больного туберкулезом, имеет ли этот эффект адсорбции, помимо установленной его роли в предохранении эритроцитов и гемолитического действия туберкулеза, защитно-приспособительное значение для инфицированного организма?

В результате анализа данных литературы о природе закономерных сдвигов в белковой формуле сыворотки крови при туберкулезе (понижение содержания альбуминов и повышение  $\alpha_2$ - и  $\gamma$ -глобулинов, снижение коэффициента  $A/\gamma$ , тенденция к гипопротенемии со стороны общего белка крови), мы пришли к выводу, что в основе всех этих изменений лежит не столько специфическая реакция организма на этнологический фактор туберкулеза, сколько своеобразная корреляция патоморфологических проявлений заболевания, направленная, в частности, на экссудативно-продуктивный фон развивающегося патологического процесса без учета его морфологической специфики. В связи с этим можно допустить аутоиммунное происхождение сывороточных антител при туберкулезе как преимущественный ответ организма  $\alpha_2$ -глобулинами на белковые продукты распада в очагах туберкулезного поражения.

При таком предположении становится очевидным защитно-приспособительное, вернее, компенсаторное значение эффекта гемад-

сорбции аутоантител при туберкулезе. Так, в результате фиксации аутоантител на поверхности эритроцитов должна произойти их реактивная инактивация, а следовательно, и ослабление параспецифического фона сенсibilизации при туберкулезе. Последнее в свою очередь должно обеспечить более благоприятные условия для акцентированной расшифровки иммунокомпетентными клеточными системами организма гаптенной информации, поступающей от этиологического фактора, т. е. усилить уровень «истинной» туберкулезной аллергии, являющейся, по мнению большинства исследователей, показателем состояния иммунитета при туберкулезе. Это и составляет, по нашему мнению, второй механизм косвенного иммунобиологического участия эритроцитов в компенсаторной корреляции инфицированным организмом развития туберкулезного процесса.

Следующим необходимым этапом исследования нам представляется анализ многочисленных данных литературы, констатирующих терапевтический эффект от переливания донорской эритроцитарной массы больным с различными формами туберкулеза (Б. Г. Файншмидт, И. И. Фролов, 1933; Л. Н. Жмакин, 1935; И. П. Якунцев, 1940; П. И. Чубкова, 1947; В. И. Рахман, 1948; Е. А. Юрмин, 1950). Можно допустить, что терапевтический эффект у больных туберкулезом в результате переливания им эритроцитарной массы от донора, по-видимому, отчасти обуславливается как противоанемическим восполнением, так и дополнительным «адсорбционно» направленным участием поступивших эритроцитов в снижении уровня параспецифической (аутогенной) сенсibilизации инфицированного организма. Однако связывать всю полноту и длительность клинико-терапевтического действия перелитой эритроцитарной массы только с указанными факторами, по-видимому, неправомерно. Надо полагать, что большая часть поступивших в инфицированный организм эритроцитов — в силу своего гомологического происхождения, а также ввиду более высокой гемолитической чувствительности к туберкулину (из-за отсутствия слоя «защитной адсорбции» аутоантител) — должна иметь укороченный цикл функционирования в кровеносном русле.

Учитывая биологическую совместимость и взаимосвязь между рассмотренными факторами, на первый взгляд противоречащими друг другу, логично допустить наличие в структуре эритроцита каких-то активных субстанций, которые высвобождаются в изолированном организме, способствуют специфическому или неспецифическому усилению его противотуберкулезного ответа. Вероятность такого предположения подтверждается детальным анализом данных литературы о химической структуре эритроцита.

Как известно, не только функциональную, но химическую основу эритроцита составляет гемоглобин — сложное белковое соединение, представляющее собой аддитивный комплекс простетической и глобиновой групп (Baglioni, 1964). Достоверно установлено, что нормальный гемоглобин взрослого человека гетерогенен (Morrison, Cook, 1955; Prins, Huisman, 1956), причем гетерогенность гемоглобина определяется аминокислотной неоднородностью и различием физико-химических свойств его глобиновой фракции, так как гем-протопорфирина IX+Fe — абсолютно идентичен у всех животных (Baglioni, 1964). Важно поэтому оценить потенциальную активность составных его глобиновой фракции.

В результате электрофоретического исследования структуры нормального гемоглобина Kunkel, Wallenius (1955) впервые установили, что его глобиновый компонент не однородная субстанция, а сложный продукт, состоящий из трех фракций Hb-A, Hb-A<sub>2</sub> и Hb-A<sub>3</sub>.

Большинство физических и химических свойств эритроцита связано с Hb-A, т. е. с фракцией, составляющей около 90% нормального гемоглобина крови человека (Baglioni, 1964). Химическая структура этой фракции представлена четырьмя пептидными цепями, две из которых при кислотном гидролизе быстро освобождают N-концевой дипептид валин-лейцин ( $\alpha$ -цепь), а две другие ( $\beta$ -цепь) освобождают валин более медленно из-за особенностей N-концевого их построения (N-концевая последовательность их аминокислот представлена вал-гис-лей (Rinesmith и др., 1957). Учитывая два основных момента, характерных для Hb-A, — химическую стойкость полипептидных связей, обеспечиваемую, по всей вероятности, наличием активных групп в виде гистидина, лизина и тирозина (Hasselrodt, Vinograd, 1959), а также функциональную ответственность этой фракции гемоглобина за газовый обмен организма, следует признать, что репродукционная отвлеченность химического превращения Hb-A в процессе гемолитического распада эритроцита или при ресинтезе гемоглобина в гемопоэзных органах и системах, т. е. роль Hb-A как исходного субстрата, поставляющего инфицированному туберкулезом организму иммунобиологически активные осколки пептидных цепей для дополнительного усиления защитно-приспособительного (например, аллергического) ответа, является маловероятной. Если исходить из признания структурной и количественной стабильности Hb-A, то приходится допустить, что эффект анемизации инфицированного туберкулезом организма преимущественно за счет недостатка гемоглобина эритроцитов связан со структурной инактивацией или химическими превращениями функций Hb-A<sub>2</sub> и Hb-A<sub>3</sub>.

Химическая структура и функциональное значение этих «малых» фракций гемоглобина еще детально не изучены. Тем не менее установлено, что, например Hb-A<sub>2</sub>, составляющий всего 2,5% нормального гемоглобина (Bagleoni, 1964), не является химическим производным Hb-A, хотя по своему химическому строению и находится в непосредственной близости от структуры Hb-A. При исследовании структурной характеристики Hb-A<sub>2</sub> методом «отпечатков пальцев» была установлена аминокислотная идентичность одной пары полипептидных цепей этой фракции гемоглобина  $\alpha$ -цепям Hb-A, но обнаружены отклонения в аминокислотной последовательности цепей, соответствующих  $\beta$ -цепям Hb-A (Ingam, Stretton, 1959, 1961, 1962; Miller, Jonxis, 1960). В частности, было показано, что сущность различия между  $\beta$ -цепями Hb-A и  $\beta$ -цепями Hb-A<sub>2</sub> лишь в различии четырех из 146 остатков. Однако, несмотря на столь незначительные отличия в химической структуре Hb-A и Hb-A<sub>2</sub>, функция их, по-видимому, прямо противоположна. Об этом свидетельствует хотя бы тот факт, что количественное содержание Hb-A<sub>2</sub> при ряде анемических процессов, например, при гетерозиготной анемии (анемия Кулея), как правило, удваивается (Kunkel и др., 1957; Hill, Schwartz, 1959; Cerpellini, 1959). Этот количественный сдвиг со стороны Hb-A<sub>2</sub> — ввиду близости ее аминокислотного построения структуре Hb-A — является компенсаторно-приспособительным ответом организма, направленным не на восстановление функциональной полноценности эритроцита при анемии, а лишь на восполнение его гемоглобина.

С иммунобиологической точки зрения особого внимания, на наш взгляд, заслуживает гемоглибиновая фракция A<sub>3</sub> — малый компонент, быстро мигрирующий при электрофорезе, однако трудно отделяемый от Hb-A (Kunkel, Wallenius, 1955). С фракцией Hb-A<sub>3</sub> в значительной степени связана гетерогенность не только молекулы гемоглобина, но и эритроцита в целом. Согласно одной из наиболее распространенных и аргументированных точек зрения, фракция гемоглобина A<sub>3</sub> является химическим производным от Hb-A, и происхождение ее связано с функциональным старением последнего (Kunkel, Wallenius, 1955; Kunkel, Beagn, 1955). Это подтверждается данными хроматографического анализа фракционных составных Hb-A<sub>3</sub>, в результате которого было установлено, что химическую основу этого гемоглибинового компонента эритроцита составляет смесь различных продуктов, образующихся при изменении молекулы Hb-A в процессе ее физиологического старения (Schnek, Schroeder, 1961).

Данные литературы показывают, что единственное, но иммунобиологически определяющее различие между основным компонентом и этой малой фракцией гемоглобина заключается в изби-

рательности присутствия в Hb-A<sub>2</sub> пептида, взаимодействующего с нингидридом и дающего серную пробу (Miller, Jonxis, 1960). Изучение аминокислотного состава этого пептида, его электрофоретической и хроматографической подвижности показало, что по химическому строению он представляет собой глутатин-трипептид, состоящий из глутаминовой кислоты, цистеина и гликокола (Б. И. Збарский и др., 1965). Глутатин не является составной молекулы гемоглобина, хотя довольно прочно соединен с ней. Именно с этим трипептидом связана гетерогенность молекулы Hb-A<sub>2</sub>; уровень же гетерогенности Hb-A<sub>2</sub> прямо пропорционально зависит от количества присоединенных молекул глутатина (Miller, Jonxis, 1960). Исходя из того, что глутатин не является органической составной гемоглобина, а накопление его в эритроцитарной клетке может рассматриваться как своеобразный биологический индикатор физиологического старения и молекулы Hb-A и эритроцита в целом, можно допустить, что несмотря на стойкость химических связей глутатина с молекулой гемоглобина при гемолизе эритроцита, а также при ресинтезе гемоглобина в органах эритропоэза происходит химическое отщепление, а следовательно, и биологическая изоляция этого гетерогенного компонента фракции Hb-A<sub>2</sub>.

Мы полагаем, что именно биологической активностью химически изолированного глутатина частично объясняется относительно длительный терапевтический эффект переливания больным туберкулезом эритроцитарной массы от донора. Несмотря на еще недостаточную изученность биологической функции глутатина, в последнее время высказывается мысль, что этот трипептид, являющийся коэнзимом дегидраназы 3-фосфоглицериновой кислоты и глиоксалазы, активизирует протеолитические ферменты и гормоны, а также способствует поддержанию на определенном уровне в клетке биологически активных сульфгидрильных групп белков при изменяющихся условиях pH среды (Б. И. Збарский и др., 1963). С этой точки зрения протективная важность дополнительного поступления глутатина в инфицированный организм становится очевидной. Это обеспечивает как биостимуляцию протеолитических систем инфицированного организма в направленном ответе на бактериохимическую информацию бактериальной клетки туберкулеза, так и повышение уровня цитологической сопротивляемости макроорганизма патологическому процессу. Принимая во внимание выраженную электрофоретическую и хроматографическую подвижность глутатина, по-видимому, нельзя исключить и потенциальную возможность «гомостазного» (Н. Ф. Гамалея, 1951) участия глутатина как фактора, фиксирующего на себе и тем самым механически или биологически инактивирующего токсические субстанции микобактерий туберкулеза.

Специального обсуждения заслуживает, по нашему мнению, и общеизвестное положение о том, что гемоглобину, помимо присущей ему специализированной функции, а также близким к нему по химическому составу миоглобину мышц, порфирину, цитохрому и дыхательному ферменту Варбурга принадлежит огромная роль в приспособительных актах по отношению к факторам внешней среды (И. В. Давыдовский, 1969). Рассматривая этот вопрос, целесообразно остановиться на следующих двух моментах: 1) в отдаленном филогенезе, например, у беспозвоночных, гемоглобин в норме не связан со структурой эритроцита, а растворен в плазме; 2) при ряде инфекционных процессов (сыпной тиф, сифилис, розеолезная и папулезная инфекционная экзантема) свободный гемоглобин усиленно проникает в ткани (И. В. Давыдовский, 1969).

Представляют интерес данные литературы о том, что при гемолизе эритроцита в кровеносном русле высвобождающийся гемоглобин довольно часто связывается с гаптоглобином, и образовавшийся комплекс медленно выводится из крови, в том числе за счет поглощения его элементами РЭС (Jayle, Boussier, 1955). Вторым важным фактом заключается в том, что гаптоглобин — белок, содержащий около 20% углеводов, избирательно связан с фракцией  $\alpha_2$ -глобулинов (Straub, 1965).

Сопоставление биологического соответствия и реagenной взаимосвязи между гемоглобином и гаптоглобином, а также интерпретация этих данных применительно к специфической характеристике белковой формулы сыворотки крови при туберкулезе (снижение коэффициента  $A/\gamma$  за счет снижения в сыворотке крови содержания альбуминов и направленного повышения глобулиновых фракций, в частности  $\alpha_2$ -глобулина) позволяет сделать несколько предположительных выводов:

во-первых, о наличии аутоантигенных свойств у гемоглобина, свободно циркулирующего в кровеносном русле, и закономерной реализации индуктивного ответа макроорганизма на «гемоглобиновый аутоантиген» выработкой аутоантител в виде  $\alpha_2$ -глобулинов;

во-вторых, о том, что аутоантигенный стимул, создаваемый циркулирующей изолированной гемоглобином, и индуктивный иммунологический ответ организма на этот антигенный раздражитель  $\alpha_2$ -глобулинами имеют непосредственное отношение к этио-патогенетической специфике туберкулеза, так как, по нашему мнению, направлены на защитно-приспособительную коррекцию прогрессирования заболевания. Не исключено, что индуктивная выработка  $\alpha_2$ -глобулиновых аутоантител на изолированный гемоглобин характеризует собой лишь первую фазу многостадийного иммунологи-

ческого ответа организма, пораженного туберкулезом. Логично допустить, что в результате комплексации гемоглобинового антигена с  $\alpha_2$ -глобулиновым аутоантителом (посредством гаптоглобина) формируется качественно новый биологический антиген, иммунологическое значение которого в проблеме туберкулеза пока неизвестно. Исследования в этом направлении могут позволить более глубоко раскрыть иммунологическую сторону противотуберкулезных возможностей восприимчивого организма.

Следует отметить (с учетом известного принципа физиологической несовместимости, антигенно характеризующей собой каждый клеточный элемент макроорганизма в зависимости от его цитологической или функциональной специализации, Сајано, 1963), что изложенная выше гипотеза не предусматривает безусловного признания инфекционно значимой аутоантигенности всего гемоглобинового комплекса эритроцита, всех его фракций — Hb-A, Hb-A<sub>2</sub> и Hb-A<sub>3</sub>. Основываясь на данных литературы, по-видимому, можно предположить, что фракции Hb-A и Hb-A<sub>2</sub> этими свойствами не обладают. Как было показано выше, гетерогенность гемоглобина избирательно связана с его фракцией A<sub>3</sub>. Следовательно, оценивая потенциальные возможности непосредственного иммунологического вмешательства гемоглобинового комплекса в этиопатогенез туберкулезной инфекции, целесообразно исходить из расшифровки «протективного» иммунологического потенциала именно этой фракции гемоглобина.

Как показывает анализ данных литературы, биологическая возможность аутоиммуногенного вмешательства эритроцитов в этиопатогенез туберкулезного процесса не исчерпывается лишь потенциальной активностью его гемоглобинового компонента. В соответствии с современными воззрениями, «материальную основу дифференцировки людей на группы крови системы АВО составляют особые вещества мукополисахаридной природы» (П. Н. Кэсъяков, Ю. И. Лорис, 1964). Химическая основа этих мукополисахаридных соединений эритроцита представлена I-фруктозой, гексозамином, редуцирующими сахарами и азотом в количестве 5% (Б. И. Збарский и др., 1965; Straub, 1965). Структурно-топографической особенностью мукополисахаридных «антигенов» является их принадлежность не к гемоглобину, а к строю эритроцита.

С иммунобиологической точки зрения особую важность, на наш взгляд, представляет оценка биохимической активности мукополисахаридных соединений эритроцита. В силу особенностей своего химического строения мукополисахариды в иммунологическом отношении являются неполноценными антигенами, т. е. гаптенами; однако наличие у них химически выраженной реагентной тенденции к аддитивной комплексации с белками и липоидами,

очевидно, должно способствовать не только структурной трансформации, но и приобретению мукополисахаридами всей биологической полноты антигенного потенциала. Особое значение приобретает этот факт при рассмотрении иммунологической проблемы туберкулеза.

Действительно, как известно, структура каждого из компонентов липополисахаридно-протеннового комплекса микобактерий туберкулеза представлена качественно многообразным набором ингредиентов, отличающихся не только своей градированной значимостью для определения антигенного потенциала микробной клетки туберкулеза, но и физико-химическими свойствами. Комплексная определенность и химическая стабильность липополисахаридно-протеннового антигена микобактерий туберкулеза крайне относительны. Именно поэтому, испытывая то или иное ферментативное воздействие со стороны компетентных биомолекулярных систем инфицированного организма, такой антиген последовательно распадается на отдельные химические составные, утрачивая при этом иммуногенетически необходимую полноценность антигенного качества и исключая тем самым возможность развития специфического ответа по законам инфекционного иммуногенеза.

В связи с этим становится вполне вероятным предположение, что при деструкции клетки эритроцита как в случае ее функционального старения, так и в результате воздействия гемолитических факторов, сопутствующих развитию туберкулезного процесса, высвобождающийся из эритроцитарной стромы мукополисахарид может избирательно вступать в комплексы с гаптенными субстанциями, изолированными из особой микобактерий туберкулеза или выработанными бактериальной клеткой в процессе ее паразитического метаболизма. Надо полагать, что при условии избирательной направленности химической комплексации эритроцитарных мукополисахаридов с гаптенными субстанциями микобактерий туберкулеза биологический результат этой комплексации, безусловно, должен отличать защитно-приспособительный рационализм. Так, если учесть значение комплексируемых липидных, туберкулопротеиновых и полисахаридных фракций микобактерий туберкулеза как «трактор-антигена» для эритроцитарного мукополисахарида, терапевтический эффект должен проявиться в частичном снятии фона специфической туберкулезной интоксикации, в снижении уровня туберкулезной аллергии до пороговых показателей их оптимального иммунологического значения при туберкулезе и т. д. Если же допустить, что эритроцитарным мукополисахаридам принадлежит функция не только носителя, но и иммунобиологического катализатора антигенной реализации гап-

тенных субстанций микобактерий туберкулеза, то возникает мысль о реальности механизмов иммунологически приемлемой трансформации в восприимчивом организме иммуногенно значимых конститuentов микробактерий туберкулеза и об индуктивной возможности иммунологического ответа инфицированного туберкулезом организма посредством выработки специфически достаточных антител.

В целом теоретический анализ рассмотренных выше материалов позволяет сделать следующее заключение. Эритроцитам восприимчивого к туберкулезу организма принадлежит немаловажное (если не ведущее) защитно-приспособительное значение в этнопатогенетической корреляции развития туберкулезного процесса. Это касается как возможности их влияния на усиление неспецифических факторов противотуберкулезного иммунитета, так и непосредственного участия в определении направленного иммунологического ответа на этиологический фактор туберкулеза.

### **Количественный сдвиг аминокислот в эритроцитах морских свинок, вакцинированных микобактериальным штаммом БК-Харьков**

*Г. П. Черкас, И. Л. Дикий. Харьков*

Протективная противотуберкулезная значимость эритроцитов крови может базироваться как на потенциальных возможностях биологической активности функционально и структурно полноценного эритроцита, так и на иммунобиологическом действии отдельных его активных фракций. Поэтому мы полагаем, что экспериментальное изучение иммуноморфологических механизмов, определяющих сферу специфического участия эритроцитов в иммунопатологии туберкулезного процесса, должно строиться на принципе раздельного исследования иммунобиологической способности структурных составных эритроцита, т. е. гемоглобина и стромы.

Исходя из изложенной в предыдущей статье предпосылки о биологической реальности механизма иммуноиндуктивной активизации гемоглобиновых фракций эритроцитов, мы предприняли экспериментальное изучение вопроса о закономерных изменениях в биохимической характеристике внутриклеточно определяющих составных эритроцита как специфическом ответе этих элементов крови на вакцинацию морских свинок микобактериальным штаммом БК-Харьков и на формирование противотуберкулезного иммунитета.

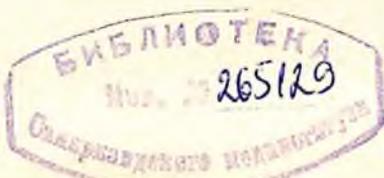


Таблица 1

Влияние вакцинации морских свинок микобактериальным штаммом БК-Харьков на содержание свободных аминокислот в их эритроцитах

Аминокислоты	Количество аминокислот в эритроцитах		Аминокислоты	Количество аминокислот в эритроцитах	
	Контроль	Опыт		Контроль	Опыт
Свободные, γ			Пролин	0,112	0,153
Триптофан	0,38	0,55	Аланин	0,601	0,956
Лизин	2,19	1,60	Глицин	0,278	0,490
Гистидин	0,38	0,72	Цистеин	0,035	0,116
Аргинин	2,44	1,47	Валин	0,485	0,640
Аммак	0,00284	0,00403	Метгониин	0,038	0,093
Связанные, %			Изолейцин	0,216	0,335
Аспарагиновая	0,619	0,946	Лейцин	0,676	0,910
Треонин	0,385	0,848	Тирозин	0,111	0,236
Серин	0,276	0,340	Фенил-аланин	0,499	0,829
Глютаминовая	0,431	0,701			

Штамм БК-Харьков представляет собой высокоиммуногенный вариант микобактерий туберкулеза бычьего типа, практически утративший как признаки специфической патогенности, так и биологически значимую аллергенность в результате наследственно закрепленной культуральной адаптации микроорганизма к пассированию на средах с добавлением 15% эктерицида. За 2,5 месяца до начала основного опыта 200 морских свинок были однократно подкожно вакцинированы 0,01 мг микробной взвеси этого микобактериального штамма. Эксперимент (10 серий) предусматривал определение количественного соотношения свободных и связанных аминокислот в эритроцитах вакцинированных морских свинок с помощью аминокислотного анализатора КЛ-3 фирмы Hitachi. Полученные результаты были сопоставлены с аминокислотной характеристикой эритроцитов невакцинированных животных (табл. 1).

Принципиальная значимость оценки и интерпретации результатов биохимического исследования вопроса о направленном влиянии микробных особей микобактериального штамма БК-Харьков на изменение качественной и количественной характеристики свободных и связанных аминокислот в эритроцитах противотуберкулезно вакцинированных морских свинок определяется следующим. Как известно, аминокислоты являются единственными химическими ингредиентами, формирующими в своей полипептидной совокупности (600 аминокислот) белковую часть гемоглобина, т. е. ту часть структурной составной эритроцита, с которой связана физико-химическая, а следовательно, и иммунобиологическая специфика видовой характеристики этих форменных элементов крови

(Baglioni, 1964). Более того, со строгой определенностью в последовательности и N-концевом расположении аминокислотных трипептидов связаны фракционные различия полипептидных цепей Hb-A<sub>1</sub>, Hb-A<sub>2</sub> и Hb-A<sub>3</sub>. При замещении даже одной аминокислоты в полипептидной структуре гемоглобина (например, звена в Hb-G<sub>Сан-Хосе</sub> — лизина на глютаминую кислоту) (Hill, Swenson, Schwartz, 1960; в Hb-G<sub>Филадельфия</sub> — лизина на аспарагин (Baglioni, Ingram, 1961) или в Hb-A — валина на остаток глютаминовой кислоты (Ingram, 1958) закономерно наступает образование аномальных гемоглобинов, отличающихся от нормальных физико-химическими свойствами и представляющих собой результат мутаций, наследуемых как аутомсомные гены (Baglioni, 1964). С аномальными же гемоглобинами связан целый ряд патологических состояний, систематизированных в литературе как гемоглобинопатии (Itano, 1957; Nehmann, 1960; Rucknagel, Neel, 1961).

Таким образом, изменение аминокислотного баланса эритроцитов после контакта восприимчивого к туберкулезу организма с вакцинным штаммом БК-Харьков может рассматриваться не только как доказательство этио-специфического влияния микобактерий туберкулеза на биохимизм эритроцитов, но и как свидетельство участия последнего в поствакцинальном процессе.

Анализ полученных нами экспериментальных данных позволяет сделать несколько выводов.

Так, прежде всего, выявленную закономерность повышения содержания в эритроцитах свободных и связанных аминокислот (количественный уровень большинства исследованных аминокислот оказался повышенным почти в два раза) можно считать показателем формирующегося или сформированного иммунитета к туберкулезу. Рассматривая наиболее вероятные причины этого сдвига, логично допустить, что удвоенный уровень свободных и связанных аминокислот в структурно полноценных эритроцитах вакцинированных животных является следствием функциональной активизации этих форменных элементов крови, что в свою очередь имеет непосредственное отношение к иммунологической корреляции поступившего в организм бактериального раздражителя. В связи с этим закономерно возникает вопрос о механизмах взаимосвязи между иммуногенным фактором микобактериальной природы и функциональной активностью эритроцитов периферической крови.

Учитывая отличительные особенности штамма БК-Харьков (практическая авирулентность, сниженная до биологического минимума, специфическая аллергенность и отсутствие способности к формированию первичного туберкулезного комплекса) при оценке возможных механизмов, обеспечивающих условия для непо-

средственного контакта микробных особей этого варианта микобактерий туберкулеза с эритроцитами морских свинок, следует обратить особое внимание на два факта. С одной стороны, это отсутствие у полученного микроорганизма какой бы то ни было способности к специфическому для туберкулеза приживлению в органах и тканях восприимчивого животного, а с другой, — «фагоцитодоступность», вплоть до завершенности этого иммунологического процесса, из-за частичной утраты бактериальными особями штамма БК-Харьков патогенно ответственных жирных кислот вследствие направленной адаптации микроорганизма к культивированию на средах в присутствии определенных концентраций препарата эктерицид.

В связи с этим становится вполне правомерной предпосылка о том, что микобактерии туберкулеза, лишенные патогенных свойств, при попадании в восприимчивый организм подвергаются незамедлительной бактериологической инактивации компетентными биомолекулярными или иммунологическими системами, а продукты бактериолиза микробных клеток проникают в кровеносное русло, где фиксируются на эритроцитах, которым, как известно, присуща высокая сорбционная активность. Именно фиксация структурно изолированных конstituентов бактериальной клетки микобактерий туберкулеза, штамм БК-Харьков, на поверхности эритроцита и является, по нашему мнению, наиболее вероятным, если не обязательным условием, благодаря которому в дальнейшем происходят количественные сдвиги в аминокислотной характеристике эритроцитов периферической крови.

Каким же образом осуществляется влияние адсорбированных на поверхности эритроцита бактериохимических конstituентов микобактерий туберкулеза — в конкретном случае производных микробных особей штамма БК-Харьков — на изменение аминокислотной характеристики функционально и структурно полноценных эритроцитов?

С теоретической точки зрения, по-видимому, нельзя полностью исключить вариант, согласно которому увеличение внутриклеточного содержания в структуре эритроцита свободных и связанных аминокислот является следствием функциональной активации этих форменных элементов крови в результате адсорбции на их поверхности определенных конstituентов микобактерий туберкулеза. В то же время, исключая видовые различия и аномальные отклонения в физико-химической характеристике глобинов, обусловленные в основном неодинаковой аминокислотной последовательностью в построении полипептидных цепей гемоглобинов, на основании общезвестных данных литературы (Baglioni, 1964; Straub, 1965; Б. И. Збарский и др., 1965) можно заключить, что

структурно сформированная клетка эритроцита не отличается способностью к дополнительному синтезу внутриклеточного белка и, следовательно, к количественному варьированию глобиновой, а значит и аминокислотной характеристики. Поэтому возможность влияния адсорбированных на поверхности эритроцита внутриклеточных конститuentов микробных клеток штамма БК-Харьков на повышение содержания в эритроците свободных и связанных аминокислот представляется маловероятной.

Несостоятельность механизма индуктивной взаимосвязи между изменяющейся биохимической характеристикой эритроцита и процессом адсорбции на его поверхности продуктов бактериального распада микробных особей штамма БК-Харьков оставляет, как нам кажется, лишь один вариант для объяснения вакцинально зависимой перестройки аминокислотного состава эритроцита, а именно предположение о возможности проникновения бактериальных аминокислот (жирных кислот?) внутрь эритроцита. В пользу этого предположения, на наш взгляд, говорит сообщение А. Шубладзе с соавт. (1970) о способности некоторых вирусов (например, вируса ОЭМч) к постадсорбционному проникновению внутрь эритроцитов и к репродукции в них. Доказанность этого биологического феномена позволяет допустить возможность реализации аналогичного эффекта при адсорбционном контакте эритроцитов и с отдельными аминокислотами или протеннами, изолированными из микобактерий туберкулеза. При этом особое значение приобретает оценка аминокислотной характеристики микобактерий туберкулеза и их количественного отражения в биохимическом сдвиге эритроцитов в поствакцинальный период.

Несмотря на то, что целые бактериальные клетки или отдельные бактериальные белки, как правило, не исследованы в такой степени, чтобы выяснить точно их качественный и количественный состав с идентификацией каждой аминокислоты в отдельности (Е. М. Губарев, 1952), состояние вопроса об особенностях бактериохимического состава микобактерий туберкулеза все же позволяет дать в общих чертах аминокислотную характеристику этого микроорганизма (табл. 2).

При сопоставлении качественных и количественных показателей аминокислотного состава микобактерий туберкулеза с биохимическими сдвигами в эритроцитах, имевших вакцинный контакт с микробными особями штамма БК-Харьков, можно отметить как определенный параллелизм, так и относительную взаимозависимость. В частности, согласно данным исследования, параллелизм внутриэритроцитарного взаимодействия прослеживается в отношении гистидина, аммиака и в какой-то мере триптофана (свободные аминокислоты), а также в отношении фенил-аланина и вали-

Таблица 2

Аминокислотная характеристика микобактерий (по Е. М. Губареву, 1952)

Аминокислоты	Содержание на весь белок, в %	
	В. Мусо- bact. tubercu- losis	В. Мусо- bact. lacticola
Валин	9,35	0,645
Аргинин	2,15	2,927
Лизин	0,735	0,475
Фенил-аланин	7,85	5,58
Тирозин	+	+
Пролин	2,32	5,05
Гистидин	0,51	0,27
Триптофан	+	+
Аммиак	0,097	0,089

на (связанные аминокислоты). Это позволяет допустить, что именно данные микобактериальные аминокислоты обладают не только наиболее выраженной биомолекулярной способностью к внутриэритроцитарному проникновению, но, возможно, и иммунохимической компетентностью в поствакцинальной перестройке эритроцитов восприимчивого к туберкулезу организма.

Если этот вывод правилен, то возникает вопрос о причинах повышения общего количества в микобактериально компетентных эритроцитах да-

же тех связанных аминокислот, которые до настоящего времени не обнаружены в составе микробной клетки БК. Не располагая собственным материалом для экспериментально обоснованного вывода о природе этого биохимического эффекта, мы все же полагаем, что по своему происхождению он может быть связан либо с количественным восполнением эритроцита аминокислотами, еще не идентифицированными в структуре микобактерий туберкулеза, либо с проникновением внутрь эритроцита бактериохимически определяющих жирных кислот микробных особей штамма БК-Харьков. В плане обоснования правомерности последнего суждения определенное значение приобретает представление об аминокислотах как производных кетокислот, в которых водородный радикал замещен остатком аммиака (А. Гинсбург, 1933). Химические возможности этого процесса, особенности бактериохимического состава микобактерий туберкулеза (49—52% активных липоидных субстанций) и повышенное содержание в исследуемых эритроцитах свободного аммиака (см. табл. 1) не позволяют полностью исключить биологическую возможность внутриэритроцитарной трансформации жирных кислот микобактерий туберкулеза в моноаминокарбоновые, диаминокарбоновые и аминодикарбоновые кислоты эритроцита.

Таким образом, есть основания сделать предположительный вывод о биологической способности активных фракций микобактерий туберкулеза (аминокислот и жирных кислот) к проникновению внутрь эритроцита.

Наконец, специального обсуждения заслуживают, на наш

взгляд, полученные данные о снижении в эритроцитах противотуберкулезно вакцинированных морских свинок содержания свободного лизина и аргинина (соответственно в 1,4 и 1,6 раза по сравнению с контролем). Следует отметить, что этот факт, по-видимому, может рассматриваться не только как свидетельство функциональной компрометации эритроцитов в результате иммуногенного контакта морских свинок с микробными особями вакцинного штамма БК-Харьков (из-за незаменимости этих аминокислот для организма, Б. И. Збарский, 1965), но и как своеобразное подтверждение биологической реальности механизма проникновения жирных кислот микобактериального происхождения внутрь эритроцитов. Так, анализируя данные об аргининодефицитности эритроцитов (в плане взаимосвязи этого эффекта с механизмом внутриэритроцитарного проникновения жирных кислот микобактерий туберкулеза), можно отметить одно из отличительных свойств этой аминокислоты, а именно «антикетогенность», т. е. способность резко снижать кетонурию, например, при диабете или при голодании (Б. И. Збарский, 1965). Логично предположить, что одной из причин дефицита свободного аргинина в эритроцитах противотуберкулезно вакцинированных морских свинок может быть компенсаторное уменьшение содержания этой аминокислоты за счет ее антикетогенного воздействия на внутриэритроцитарное поступление бактериохимически изолированных липоидных субстанций микобактерий туберкулеза.

Подводя итог данному разделу исследований, считаем возможным сделать следующие выводы. Вакциногенный контакт восприимчивых к туберкулезу животных с микробными особями апатогенного и слабо аллергенного штамма БК-Харьков закономерно сопровождается количественной перестройкой аминокислотной характеристики эритроцитов. Этот эффект в своей биохимической основе наиболее вероятно связан с внутриэритроцитарным проникновением микобактериальных аминокислот и жирных кислот, первоначально адсорбированных на поверхности эритроцита.

### **К вопросу об оценке эффективности растворимых паракокклюшных антигенов**

*Л. Г. Везуб, М. Г. Добжинская. Харьков*

В защите организма от коклюша определенное значение имеет один из естественных механизмов — клеточная реакция (В. М. Войно-Ясенецкий, Л. Д. Хай, 1959; А. А. Сумароков,

Ю. В. Кулакова, 1964; Н. Ф. Амфитеатрова, 1965; В. П. Селезнева, М. А. Фролова, 1967).

По данным одних авторов, в процессе фагоцитоза при коклюше принимают участие преимущественно макрофаги (В. М. Войно-Ясенецкий, Л. Д. Хай, 1957; 1958; 1959). Ряд авторов приводят данные, свидетельствующие о том, что формирование поствакцинального иммунитета к возбудителю коклюша у животных, иммунизированных корпускулярными вакцинами, сопровождается активизацией фагоцитарной реакции макрофагов (В. П. Селезнева, М. А. Фролова, 1967; В. П. Селезнева, 1970).

Менее изучена роль клеточных механизмов в защите организма против паракоклюшного микроба. Между тем исследования в этом направлении необходимы, так как показатели, полученные при изучении фагоцитоза, могут быть использованы для оценки эффективности противопаракоклюшных препаратов.

Целью настоящего исследования явилось изучение фагоцитарной активности клеточных элементов интраперитонеальной жидкости животных при иммунизации растворимыми паракоклюшными антигенами, а также фракциями этих препаратов, полученными при гельфильтрации через сефадекс Г-100. Оценка фагоцитарной реакции у белых мышей проводилась при помощи перитонеальной пробы Здродовского.

**Фагоцитарная активность клеток перитонеальной жидкости белых мышей, цыми**

Препарат	Доза в 0,5 мл (мкг белка)	Иммунизирующая активность		Время исследования				
		ЕД <sub>50</sub> в 1 мкг белка	Титр агглютининов	1		3		
				фагоцитарный				
		общий	макрофаги	микрофаги	общий	макрофаги		
Адсорбированный паракоклюшный антиген АРПА	800	15,5±6,0	139,3*	43,7±3,7	36,5±1,7	7,0±2,5	24,7±7,4	7,9±3,1
		6,0±1,0	320,0*	51,7±1,29	51,7±6,3		0	23,5±7,5
	500	5,0±1,4	33,6*	21,1±5,7	21,0±5,7	0	43,4±9,5	8,8±1,7
		2,0	127,0*	34,2±9,8	33,7±9,8		Единичные	42,0±7,4
	20	Не активна		17,4±1,9	15,0±2,4	2,4±1,1		44,0±11,6
		90	Не активна		33,7±5,1		21,7±4,0	10,2±4,2
Не иммунизированные мыши	—	—	—	—	—	—	—	

Мышей однократно иммунизировали растворимыми параккоклюшными антигенами, содержащими в иммунизирующей дозе 800, 500 и 260 мкг белка, а также I высокомолекулярной (20 мкг белка) и II низкомолекулярной (90 мкг белка) фракциями. Через 30 дней животным вводили в брюшную полость I DCI параккоклюшной культуры. Контролем служили интактные мыши. Показатели фагоцитарного процесса изучали через 1, 3, 5, 24, 48, 72 и 96 часов после введения параккоклюшной культуры.

Изучение общей фагоцитарной активности клеток перитонеальной жидкости мышей, иммунизированных определенными дозами изучаемых препаратов, показало, что уже через час после введения культуры у животных почти всех групп отмечается активизация фагоцитоза, показатели которого достигают максимальных величин через 3 часа (таблица). В течение последующих двух часов в перитонеальной жидкости начинается снижение числа фагоцитировавших клеток. Через 24 часа фагоцитоз у животных, иммунизированных почти всеми изучаемыми препаратами (кроме II фракции), достигает наименьшей величины. Фагоцитарные показатели в этот срок выражались величинами  $2,7 \pm 0,4$ — $9,1 \pm 4,1$ . Через 48—72 часа в перитонеальной жидкости иммунизированных животных встречались лишь единичные фагоцитировавшие клетки.

**иммунизированных растворимыми параккоклюшными антигенами и его фрак-**

после иммунизации, часы									
показатель									
5									
24									
48									
микрофаги	общий	макрофаги	микрофаги	общий	макрофаги	микрофаги	общий	макрофаги	микрофаги
$16,6 \pm 5,3$	$22,2 \pm 8,3$	$4,8 \pm 1,9$	$17,4 \pm 6,9$	$2,7 \pm 0,4$	$1,4 \pm 0,3$	$1,3 \pm 0,4$	0	0	0
$23,5 \pm 7,5$	$14,2 \pm 3,1$	Единичные	$13,0 \pm 3,3$	Единичные	Единичные	Единичные	Единичные	Единичные	0
$34,7 \pm 8,5$	$31,0 \pm 8,8$	$6,7 \pm 2,6$	$24,4 \pm 8,1$	$9,1 \pm 4,1$	$2,6 \pm 0,7$	4	$8,1 \pm 3,9$	$4,6 \pm 2,0$	3,5
$23,4 \pm 4,9$	$27,5 \pm 8,4$	$6,5 \pm 2,1$	$21,0 \pm 7,1$	$4,1 \pm 1,7$	$2,2 \pm 0,6$	$0,8 \pm 0,4$	$1,9 \pm 0,7$	$1,7 \pm 0,7$	Единичные
$36,5 \pm 8,4$	$26,0 \pm 5,5$	$2,3 \pm 0,9$	$23,7 \pm 5,9$	$40,5 \pm 8,2$	$10,9 \pm 2,8$	$29,6 \pm 6,8$	Единичные	Единичные	0
$36,3 \pm 4,7$	$39,5 \pm 5,2$	$9,7 \pm 1,5$	$29,8 \pm 4,0$	$16,2 \pm 4,1$	$2,8 \pm 1,3$	$13,4 \pm 1,0$	0	0	0

Сопоставление фагоцитарных показателей у животных, иммунизированных различными дозами растворимых паракокклюшных антигенов, свидетельствует о том, что эти дозы в разной степени стимулируют фагоцитарную активность клеточных элементов перитонеальной жидкости. Так, растворимый паракокклюшный антиген в оптимальной иммунизирующей дозе (500 мкг белка) в большей степени стимулировал фагоцитарную активность клеток (фагоцитарный показатель составлял  $51,7 \pm 9,8$ ), чем в дозе 260 мкг белка, обладающей слабой иммунизирующей активностью (фагоцитарный показатель  $21,1 \pm 5,7$ ).

Изучение фагоцитарной активности клеток животных, иммунизированных фракциями растворимых паракокклюшных антигенов, показало выраженное стимулирующее действие как I высокомолекулярной, так и II низкомолекулярной фракций. Следует отметить, что фагоцитарные показатели через 24 часа после заражения паракокклюшной культурой были более высокими в группе животных, иммунизированных II низкомолекулярной фракцией, чем у животных, получивших I высокомолекулярную фракцию. Предыдущими нашими исследованиями было показано, что II фракция является иммунологически неактивной. Вместе с тем, судя по результатам опытов, иммунизация животных этой фракцией, хотя и не приводит к формированию специфической резистентности необходимой напряженности, однако вызывает определенные иммунологические сдвиги в сыворотках животных. Возможно, то небольшое количество активного антигена, которое, по всей вероятности, содержится в этой фракции, и вызывает повышение фагоцитарной активности клеток перитонеальной жидкости.

Необходимо также указать, что хотя у животных, зараженных паракокклюшной культурой и не получавших антигена, показатели фагоцитарной активности в первые 5 часов находились на достаточно высоком уровне, реакция эта носила незавершенный характер.

Оценивая участие в фагоцитарном процессе микро- и макрофагов, можно говорить о преобладании в первые часы после заражения макрофагальных элементов как у неиммунизированных, так и у иммунизированных животных. Наиболее высокие показатели фагоцитарной активности макрофагов отмечены у животных, иммунизированных препаратами, обладающими выраженной иммунизирующей активностью. В этот период наблюдения микрофаги либо не вовлекались в фагоцитоз, либо участвовали в весьма незначительном количестве. В более отдаленные сроки (3—5 часов) микрофагальные элементы уже преобладали над макрофагальными. Обращают на себя внимание высокие показатели

микрофагального фагоцитоза у животных, получивших II фракцию растворимого паракклюшного антигена. В последующие сроки (24 часа) сохранялось преобладание макрофагальной реакции у животных, иммунизированных растворимыми паракклюшными антигенами и их низкомолекулярной II фракцией. У белых мышей, получивших I высокомолекулярную фракцию, более высокими были показатели макрофагального фагоцитоза.

Нами была изучена также функциональная активность микро- и макрофагов интраперитонеальной жидкости иммунизированных животных. Функциональная активность этих клеток оценивалась на основании интенсивности процесса поглощения ими возбудителя паракклюша. Интенсивность фагоцитоза была выражена в условно принятых единицах: поглощение клетками микро-макрофагальной системы от 1 до 6 микробов оценивали как +, от 7 до 15 микробов — ++, 16—30 микробов — +++ и выше 30 микробов — ++++.

Анализ результатов исследования показывает, что после заражения неиммунизированных животных I DCI паракклюшной культуры в их организме в течение 24 часов преобладают клетки, содержащие незначительное количество микробов (рисунок). Количество клеток с выраженной интенсивностью фагоцитоза составляет 25—27%. В первые часы наблюдения интенсивный фагоцитоз отмечался почти в одинаковой степени как среди микро-, так и среди макрофагальных элементов. Затем количество макрофагов с интенсивно выраженным фагоцитозом резко сокращалось, а к 24 часам наблюдения вновь возрастало количество нафаршированных микробами макрофагов (52%). Через 48—72 часа фагоцитирующие микрофаги отсутствовали, у встречавшихся макрофагов интенсивность фагоцитоза была слабо выражена. На 3—5-е сутки мыши погибали при выраженных явлениях интоксикации.

Изучение интенсивности фагоцитоза у животных, иммунизированных паракклюшными антигенами и его фракциями, свидетельствует о том, что максимальная интенсивность фагоцитоза наблюдалась в первые 3 часа после введения культуры. В более поздние сроки она снижалась почти до минимума у всех животных.

Более интенсивный фагоцитоз макрофагальных элементов перитонеальной жидкости наблюдался в первые часы после заражения у животных всех групп, особенно у мышей, иммунизированных I фракцией растворимого паракклюшного антигена. Через 3, 5 и 24 часа после заражения у животных, иммунизированных паракклюшным антигеном и его I фракцией, фагоцитоз микрофагальных элементов был особенно выражен. И только в перитонеальной жидкости животных, получивших II фракцию

паракокклюшного антигена, наблюдалась интенсификация фагоцитоза макрофагами.

Сопоставление показателей фагоцитарной активности микро- и макрофагальных элементов перитонеальной жидкости и интенсивности этого процесса с иммунизирующей активностью испытуемых препаратов свидетельствует об определенной корреляции этих показателей. Следовательно, формирование резистентности в организме животных, иммунизированных растворимыми паракокклюшными антигенами, так же как и при иммунизации корпускулярными вакцинами, сопровождается определенными изменениями показателей неспецифической реактивности организма.

Таким образом, при оценке эффективности растворимых паракокклюшных антигенов наряду с показателями специфической активности этих препаратов целесообразно учитывать также такой показатель неспецифической реактивности организма, как фагоцитоз.

### **Характеристика гистаминсенсibiliзирующих и анафилактикогенных свойств паракокклюшных антигенов и его фракций**

*Л. Г. Верезуб, И. М. Лейбова. Харьков*

Вопрос о связи иммуногенных и сенсibiliзирующих свойств препаратов, полученных из микробов рода *Bordetella*, до настоящего времени остается спорным. Так, имеются данные о параллелизме защитных и гистаминсенсibiliзирующих свойств противоккоклюшных препаратов (Pittman, 1951; Joо и др., 1960, 1961; Piegoni и др., 1967). В то же время данные Л. П. Копытовской (1956), Kuwajima с соавт. (1958), А. А. Кашаевой с соавт. (1961), И. А. Лапаевой (1967), Е. П. Москаленко (1969) и других исследователей свидетельствуют об отсутствии такого параллелизма у исследуемых кокклюшных культур и полученных из них препаратов. Что касается паракокклюшного микроба, то большинство исследователей говорит об отсутствии в нем и в выделенных из него фракциях гистаминсенсibiliзирующего фактора (Maitland et al., 1955; Н. С. Захарова, 1964; Ю. В. Езепчук, 1966, 1967; Н. А. Семина, 1966, 1967; А. М. Грачева, 1966, и др.). Анафилактикогенные свойства паракокклюшного микроба вообще изучены недостаточно.

Целью настоящей работы явилось изучение гистаминсенсibiliзирующих и анафилактикогенных свойств растворимых паракокклюшных антигенов и его фракций на экспериментальных животных.

Таблица 1

Гистаминсенсibiliзирующие и анафилактические свойства растворимого паракклюшного антигена и его фракций

Сенсибилизирующий препарат	Разрешающая доза препаратов								
	гистамин	РПА	фракция I РПА	фракция II РПА	РКА	КВ	РКДС	РКПДС	ДС
АРПА	1/21	5/22	—	—	4/23	3/18	8/26	9/22	0/21
Афр. I РПА	1/27	4/20	1/17	1/11	1/16	3/20	—	—	—
Афр. II РПА	0/19	4/20	3/19	5/24	3/16	0/17	—	—	—
Контроль:									
АРКА	2/23	—	—	—	0/30	2/34	4/33	3/34	3/31
АРКДС	1/57	—	—	—	1/29	3/43	15/50	9/34	10/43
Физиологический раствор	0/10	0/20	—	—	0/20	2/20	0/20	1/20	2/22
АРКПДС	3/58	4/25	—	—	9/25	7/25	10/28	11/25	4/24

Примечание. В числителе — количество павших животных; в знаменателе — количество животных, взятых в опыт.

Опыты проводили на беспородных мышах (самках) весом 20—22 г. Мышей сенсибилизировали однократно растворимым паракклюшным антигеном в дозе, содержащей 500 мкг белка, I высокомолекулярной и II низкомолекулярной фракциями растворимого паракклюшного антигена дозами, содержащими соответственно 20 и 90 мкг белка, а также комплексным препаратом, содержащим растворимые коклюшные и паракклюшные антигены. Контролем служили интактные мыши, а также мыши, сенсибилизированные растворимым коклюшным антигеном (350 мкг), ассоциированной АРКДС-вакциной. При определении гистаминсенсibiliзирующих свойств гистамин в количестве 1 мг вводили на 14-й день после сенсибилизации животных. Изучение аллергических реакций немедленного типа проводили на основании учета гибели животных от анафилактического шока после внутривенного введения на 21-й день разрешающих доз препаратов.

Полученные данные (табл. 1) свидетельствуют о том, что растворимый паракклюшный антиген не обладает гистаминсенсibiliзирующими свойствами. Введение паракклюшного растворимого антигена в ассоциированную вакцину, состоящую из растворимых антигенов (АРКДС-препарат), также не повышало чувствительности белых мышей к гистамину. Эти данные полностью согласуются с выводами упомянутых выше исследователей, свидетельствующими об отсутствии гистаминсенсibiliзирующего фактора у паракклюшного микроба и его фракций.

Таблица 2

Содержание редуцирующих веществ в крови животных, иммунизированных различными паракокклюшными препаратами

Препарат	Сроки исследования сыворотки (день после иммунизации)									
	1-й		5-й		10-й		14-й		20-й	
	среднее значение, мг %	отклонение от норм. значения, мм. %	среднее значение, мг %	отклонение от норм. значения, мм. %	среднее значение, мг %	отклонение от норм. значения, мм. %	среднее значение, мг %	отклонение от норм. значения, мм. %	среднее значение, мг %	отклонение от норм. значения, мм. %
АРПА	97,3±2,4	37,0	106,7±8,3	30,5	126,0±12,7	—	129,0±2,4	16,2	148,3±16,2	—
I РПА	116,3±6,0	24,7	118,0±10,5	23,4	134,0±10,5	—	124,0±6,3	19,5	152,0±24,9	—
Афр. II РПА	82,1±10,8	46,8	138,3±3,2	10,0	129,5±7,2	—	118,4±2,1	23,4	135,0±22,5	—
АРКПДС	106,5±8,1	30,5	131,0±9,1	—	112,0±4,0	27,2	102,7±3,8	33,3	—	—
АРКА	94,7±4,7	58,5	102,0±3,3	33,7	102,0±3,3	33,7	107,0±6,6	30,5	115,3±1,8	25,3
АРКДС	97,3±5,5	36,7	106,0±9,2	31,1	99,8±2,7	32,5	112,0±6,1	27,2	—	—

Норма — 154,0±0,8 (среднее)

Фракции растворимого паракокклюшного антигена, полученные после гель-фильтрации на сефадексе Г-100, гистаминсенсibiliзирующими свойствами также не обладали.

В литературе есть данные о связи гиперчувствительности лабораторных животных к введению гистамина, формирующейся под влиянием вакцинных препаратов, с изменением углеводного обмена. Проведенное нами исследование углеводного обмена в крови мышей, иммунизированных указанными препаратами, свидетельствует о незначительном его нарушении (табл. 2).

Так, в крови животных, иммунизированных растворимым паракокклюшным антигеном и его фракциями, уже через сутки после иммунизации отмечается статистически достоверное снижение содержания редуцирующих веществ. Однако снижение это менее выражено, чем при иммунизации растворимыми кокклюшными антигенами. Отклонение от нормы при иммунизации растворимым паракокклюшным антигеном и его высокомолекулярной фракцией составляло 24—37%, а при иммунизации растворимым кокклюшным антигеном — 58,5%.

Исследование показало также, что сорбированная I высокомолекулярная фракция паракокклюшного антигена вызывает менее резкое снижение сахара в крови по сравнению с исходными препаратами. Начиная с 5-го дня, в крови животных, иммунизированных растворимым пара-

коклюшным антигеном и его фракциями, отмечается некоторое нарастание содержания редуцирующих веществ. На 14-й день средние показатели содержания сахара в крови мышей, иммунизированных паракклюшным антигеном и его фракциями, значительно выше, чем у мышей, получивших растворимый коклюшный антиген. Отклонение от нормы в содержании редуцирующих веществ в крови животных, иммунизированных паракклюшным антигеном и его фракциями, составляет 16,2, 19,5 и 23,4%, а у животных, получивших коклюшный растворимый антиген,— 30,5%.

Процесс нормализации содержания редуцирующих веществ в крови животных, получивших различные препараты растворимого паракклюшного антигена, полностью заканчивался к 20-му дню, в то время как в крови животных, иммунизированных коклюшным антигеном,— к 30-му дню.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о незначительном и непродолжительном нарушении углеводного обмена в крови животных при иммунизации растворимым паракклюшным антигеном и его фракциями. Эти данные соответствуют результатам Strook (1965), Н. С. Захаровой с сотр. (1968), свидетельствующим и об определенной связи между углеводным обменом и чувствительностью организма к гистамину.

Изучение аллергенных реакций немедленного типа (см. табл. 1) показало, что анафилактические свойства растворимых паракклюшных препаратов проявляются при введении их в сенсибилизирующей и разрешающей дозах. Следует отметить, что паракклюшный антиген сенсибилизировал животных к последующему введению в качестве разрешающей дозы как коклюшных (корпускулярных и растворимых), так и паракклюшных препаратов.

Сенсибилизирующая активность паракклюшных антигенов в отношении корпускулярной коклюшной вакцины и растворимой РКДС-вакцины была выражена в такой же степени, как и у коклюшного растворимого антигена ( $\chi^2=1,58$  и  $3,12$  соответственно;  $P>0,05$ ). Однако при введении мышам, иммунизированным растворимым паракклюшным и коклюшным антигеном, в качестве разрешающей дозы комплексной корпускулярной вакцины сенсибилизирующие свойства паракклюшного антигена были выражены в большей степени, чем коклюшного ( $\chi^2=5,96$ ;  $P<0,05$ ).

Несколько меньшей анафилактической активностью обладали высокомолекулярные фракции растворимых паракклюшных антигенов, что выявлялось при разрешающем введении белым мышам не только препаратов растворимых антигенов, но и корпускулярной вакцины. Различие в степени выраженности анафилактических свойств II низкомолекулярной фракции и исходного растворимого паракклюшного антигена практически не определялось.

Разрешающая активность высокомолекулярных и низкомолекулярных фракций растворимых паракокклюшных антигенов была выражена в такой же степени, как и сенсibilизирующая активность. Включение в вакцину АРКДС паракокклюшного растворимого антигена привело к некоторому усилению анафилактических свойств АРКПДС-вакцины.

О том, что именно растворимый паракокклюшный компонент обусловил усиление сенсibilизирующего действия ассоциированной АРКПДС-вакцины, свидетельствуют данные сопоставления анафилактических свойств АРКПДС- и АКДС-вакцин. Наиболее отчетливое различие сенсibilизирующих свойств этих вакцин проявлялось при введении белым мышам разрешающей дозы корпускулярных и растворимых монопрепаратов. Так, при введении белым мышам в качестве разрешающего препарата кокклюшной вакцины погибло 7 из 25 животных, сенсibilизированных АРКПДС-вакциной, и 3 из 43 мышей, сенсibilизированных АКДС-вакциной ( $\chi^2=5,6$ ;  $P<0,05$ ).

Аналогичные результаты получены при введении разрешающей дозы растворимого кокклюшного антигена ( $\chi^2=4,0$ ;  $P<0,05$ ). Введение мышам, сенсibilизированным указанными препаратами, в качестве разрешающих доз комплексных препаратов РКДС и РКПДС не выявило существенных различий в степени выраженности анафилактических свойств этих препаратов ( $\chi^2=0,27$  и  $1,90$ ;  $P>0,05$ ).

Следует также отметить, что АРКПДС-вакцина, так же как и АРКДС, обладала менее выраженными сенсibilизирующими свойствами по отношению к монопрепаратам, чем по отношению к комплексным препаратам.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что испытанные препараты не обладают гистаминсенсibilизирующими свойствами, а анафилактические их свойства выражены в различной степени. Это говорит об определенной корреляции гистаминсенсibilизирующих свойств препаратов с наблюдаемыми аллергическими проявлениями немедленного типа. Эти данные согласуются с данными исследований (П. Ф. Здродовский, 1969), где явления аллергии и анафилаксии трактуются с нейро-гуморальных позиций, в соответствии с которыми влияние гистамина и других медиаторов на местную реактивность играет существенную роль в развитии аллергических процессов.

## Клинико-эпидемиологические особенности заболеваемости коклюшем у иммунизированных АКДС-вакциной во Львове

З. Д. Кулик, А. А. Беккер,  
И. С. Давыдова. Львов

С 1968 г. иммунопрофилактика коклюша во Львове проводится адсорбированной коклюшно-дифтерийно-столбнячной вакциной (АКДС). Заболеваемость коклюшем в 1970 г. по сравнению с 1968 г. снизилась в 3 раза (табл. 1).

Таблица 1

Результаты исследований заболеваемости коклюшем (на 100 тысяч человек)

Заболеваемость	Годы				
	1966	1967	1968	1969	1970
Общая	47,2	35,2	29,2	12,2	9,6
Привитых	15,2	12,4	18,1	9,8	7,4

Имеется тенденция к изменению сезонности заболеваемости. В 1970 г. рост заболеваемости наблюдался в июле-августе, тогда как в 1968 г. заболеваемость повышалась и в зимние месяцы.

В рассматриваемый период из общего числа заболевших коклюшем детей количество привитых составляло 77,5%.

Наиболее часто болели дети в возрасте от 3 до 6 лет. Заболеваемость этой группы детей составила 75,3% всей заболеваемости 1970 г. (табл. 2). Однако по сравнению с 1968 г. заболеваемость среди этой возрастной группы снизилась в 4,2 раза.

При анализе заболеваемости по социальным группам установлено, что количество больных среди школьников систематически снижалось. Так, в 1970 г. показатель на 100 тыс. населения составил 11,7 против 54,7 в 1968 г. Заболеваемость среди детей дошкольных детских учреждений за этот период снизилась в 4,9 раза. В то же время среди детей, не посещающих детские учреждения, заболеваемость не снижалась и показатели ее в 1968 и 1970 г. были соответственно 77,3 и 76,4.

За рассматриваемый период число очагов в дошкольных детских учреждениях уменьшилось в 3,2 раза, домашняя очаговость сократилась только в 1,5 раза.

На фоне повышенной заболеваемости коклюшем в 1968 г. наблюдались вспышки заболеваний в дошкольных детских учреж-

Таблица 2

Возрастной состав заболевших  
коклюшем (на 100 тысяч человек)

Возраст	Годы		
	1968	1969	1970
До 6 месяцев	194,7	147,1	—
6—12 »	194,7	578,0	75,0
1—2 года	328,2	65,8	77,4
3—4 »	368,2	131,3	67,1
5—6 лет	215,3	109,1	97,7
7—9 »	90,6	301,7	27,4
10—14 »	24,0	76,1	3,9
15—19 »	—	—	0,2
Всего	29,2	12,2	9,6

денях. В июне 1968 г. в старшей ясельной группе детского учреждения № 111 заболело коклюшем 12 детей (диагноз подтвержден бактериологически). 99,8% детей, посещавших группу, были своевременно иммунизированы разными (К, КД) препаратами. Обследованием установлено, что в течение месяца группу посещали двое покашливающих детей, которые и стали источником последующих заболеваний в очаге.

Как видно из данных табл. 3, в последние два года заболеваемость коклюшем поддерживалась главным образом за счет детей, не посе-

ещающих дошкольные детские учреждения.

Следует отметить, что у привитых детей клиническое течение болезни было более благоприятным, чем у непривитых (табл. 4).

Из приведенных данных видно, что в 1969—1970 гг. у привитых детей, заболевших коклюшем, стали наблюдаться заболевания с тяжелым клиническим течением, однако среди непривитых эти формы болезни встречались в 1,9 раза чаще.

Таблица 3

Данные о квартирной очаговости и очаговости по дошкольным детским учреждениям

Годы	Количество детских учреждений		Количество заболевших	Количество очагов с числом случаев								всего
	всего	с очагами коклюша		1	2	3	4	5	6	8	12	
1968	191	51	109	444	11	2	1	1	—	2	1	62
	Домашние очаги		48	23	13	—	—	—	—	—	—	36
1969	200	11	13	10	—	1	—	—	—	—	—	11
	Домашние очаги		51	41	2	—	—	—	—	—	—	43
1970	202	19	27	16	1	—	4	1	—	—	—	19
	Домашние очаги		28	18	5	—	—	—	—	—	—	23

## Клиническое течение коклюша у детей непривитых и привитых АКДС-вакциной

Течение заболевания	Годы				
	1966	1967	1968	1969	1970
	Количество детей, %				
Привитые					
Легкое	38,2	66,0	95,0	89,0	79,2
Средней тяжести	61,8	34,0	5,0	10,0	16,0
Тяжелое	—	—	—	1	4,8
Непривитые					
Легкое	85,4	—	40,0	82,0	46,1
Средней тяжести	0,5	50,8	19,4	18,0	45,7
Тяжелое	14,1	49,2	40,6	—	8,2

У некоторых привитых детей, заболевших коклюшем (16,2%), отмечались нарушения интервалов между прививками, несоблюдение возрастных сроков прививок, добавочные вакцинации и др.

Большинство детей (89,3%), переболевших коклюшем, перенесли различные заболевания (соматические и инфекционные) в сроки от 1—1,5 месяца до 3,5—4 лет после последней прививки. Возможно, перенесенные заболевания снижали напряженность иммунитета к коклюшу.

Применение коклюшной моновакцины в очагах давало хороший иммунологический и эпидемиологический эффект: среди привитых коклюшной моновакциной заболеваний не наблюдалось.

Таким образом, при иммунизации детей АКДС-вакциной заболеваемость коклюшем в г. Львове снизилась в 3 раза по сравнению с 1968 г., когда прививки проводились разными противокклюшными препаратами, и значительно уменьшилась очаговость в детских коллективах. В настоящее время заболеваемость коклюшем поддерживается в основном за счет детей, не посещающих дошкольные детские учреждения. Заболевание у привитых детей протекает в более легкой форме по сравнению с непривитыми.

Обращает на себя внимание тот факт, что 89,3% заболевших коклюшем привитых детей перенесли после иммунизации различные инфекционные и соматические заболевания. Возможно, что с этим связано снижение напряженности иммунитета к коклюшу у этих детей.

## Некоторые иммунологические данные у привитых коклюшными вакцинами в Харькове

Р. И. Вельвовская, М. Г. Добжинская, Р. К. Никитина,  
Ф. Г. Грисберг. Харьков

Широко проводимая иммунизация против коклюша специфическими препаратами привела к резкому снижению заболеваемости, облегчению тяжести процесса и значительному уменьшению летальности. Однако несмотря на несомненную эффективность вакцинации еще наблюдается заболеваемость среди привитых, обуславливающая иногда вспышки в детских коллективах. Поэтому следует считать целесообразными дальнейшие наблюдения за привитыми детьми, заболевшими коклюшем, и уровнем иммунитета у них. В настоящей работе приводятся некоторые данные о заболеваемости коклюшем в г. Харькове за последние годы, а также результаты серологических исследований в отдельных детских коллективах.

Анализ показал, что после подъема заболеваемости в 1967—1968 гг. последовало резкое снижение ее (более чем в 5 раз) к 1969 г. В 1970 г. заболеваемость увеличилась по сравнению с 1969 г. в 1,5—2 раза.

Подавляющее большинство заболевших детей было привито против коклюша в соответствии с действующим законоположением. Так, в 1969 г. из заболевших было привито  $86,6 \pm 2,9\%$ , из них полноценно —  $84,6 \pm 3,2\%$ , в 1970 г. — соответственно  $80,4 \pm 2,7\%$  и  $75,2 \pm 3,1\%$ , а в 1971 г. —  $78,9 \pm 2,3\%$  и  $73,4 \pm 2,4\%$ .

В табл. 1 приведены данные о сроках заболевания коклюшем привитых детей с момента последней прививки. Большинство детей заболело через 1—2 года и более с момента последней прививки. Однако 19,6% детей заболело ранее чем через 6 мес.

Таблица 1

Сроки заболевания коклюшем привитых детей с момента последней прививки (1969—1971 гг.)

Количество привитых	Количество заболевших коклюшем после прививки в период					
	до 1 месяца	1—3 месяца	4—6 месяцев	7—12 месяцев	1—2 года	2 года и более
абс. 1386	82	95	95	187	383	544
в % $\pm m$ 100	$5,9 \pm 0,6$	$6,8 \pm 0,7$	$6,8 \pm 0,7$	$13,6 \pm 0,9$	$27,6 \pm 1,2$	$39,3 \pm 1,3$

после последней прививки, причем большая часть этих детей была трехкратно вакцинирована и ревакцинирована против коклюша.

С целью проверки противокклюшно-го иммунитета нами были выборочно обследованы отдельные группы детей восьми детских учреждений г. Харькова, в которых отмечались случаи коклюшеподобных заболеваний. В трех из этих учреждений коклюш был подтвержден бактериологически, в одном учреждении, помимо коклюшной палочки, был выделен и микроб паракоклюша. Кроме того, обследовались дети с осложнениями после коклюша, находившиеся в инфекционных больницах г. Харькова, и здоровые школьники. Всего было обследовано в реакции агглютинации 250 сывороток крови 183 детей. В качестве антигенов были использованы культуры эталонных штаммов коклюша № 305 и паракоклюша № 17903, а в ряде исследований и свежевыделенный штамм коклюшного микроба «Кл».

Как видно из табл. 2, в сыворотках более чем половины обследованных детей коклюшные антитела либо отсутствовали, либо титры их были очень низкими. Еще меньше было выявлено сывороток с антителами в защитных титрах по отношению к паракоклюшному микробу. При характеристике иммунитета мы принимали во внимание титр 1 : 80 и выше, поскольку такой уровень антител наблюдался нами в ряде случаев у заболевших с бактериологически подтвержденным диагнозом и при нарастании уровня антител в парных сыворотках. При этом следует отметить, что во многих исследованных сыворотках титры антител к свежевыделенному штамму «Кл» были несколько ниже титров антител к штамму № 305, особенно при на-

Таблица 2

Уровень агглютининов к коклюшному и паракоклюшному микробам в сыворотках обследованных детей

Штамм микроба	Количество детей	Количество сывороток		Количество сывороток с титрами агглютининов													
		Абсолютное число	%, ± m	0		1:40		1:80		1:160		1:320		1:640		1:1280	
				абс. число	%, ± m	абс. число	%, ± m	абс. число	%, ± m	абс. число	%, ± m	абс. число	%, ± m	абс. число	%, ± m	абс. число	%, ± m
305	183	250	100	89	35,6 ± 3,0	46	18,4 ± 2,4	47	18,8 ± 2,5	32	12,8 ± 2,1	15	6,0 ± 1,4	6	2,4 ± 0,9	15	6,0 ± 1,4
17903	172	237	100	171	72,1 ± 2,9	34	14,3 ± 2,2	22	9,3 ± 1,8	8	3,4 ± 1,2	2	0,9 ± 0,6	0	0	0	0

личии невысокого уровня антител к штамму № 305. Антитела к штамму «Кл» в этих случаях нередко отсутствовали. И если нарастание титра антител к штамму «Кл» всегда сопровождалось нарастанием титра антител к штамму № 305, то обратная зависимость наблюдалась не во всех случаях.

Нами была изучена связь между уровнем антител к коклюшному микробу в сыворотке крови и сроком, прошедшим с момента последней инъекции коклюшной вакцины. Оказалось, что  $49,2 \pm \pm 5,6\%$  детей, у которых в сыворотках титры антител не превышали 1 : 40, были привиты против коклюша более чем за два года до исследования сыворотки. В  $24,3 \pm 5,0\%$  таких сывороток титры противококлюшных антител находились в пределах 1 : 80—1 : 160 и выше. В сыворотках детей, привитых не более чем за год до исследования, высокий уровень агглютининов (1 : 160—1 : 1280) был у  $38,5 \pm 3,7\%$  обследованных и только в  $19,0 \pm 4,4\%$  сывороток детей агглютинины отсутствовали.

Данные изучения парных сывороток крови обследованных детей свидетельствуют о том, что у  $12,3\%$  из них имеется увеличение титра агглютининов в 4—16 раз. Столь большие сдвиги в титре агглютининов в процессе обследования у одного и того же ребенка дают основание предположить наличие инфекционного процесса, вызванного микробами коклюша или паракоклюша, несмотря на отсутствие положительных результатов при бактериологическом исследовании.

Взятые в опыт сыворотки были обработаны цистеином для определения 7-S- и 19-S-антител. Реакцию агглютинации ставили со штаммами коклюшной палочки № 305 и паракоклюшного микроба № 17903. Результаты исследования показали, что в 84% случаев антитела выявлялись за счет 7-S-глобулинов. В тех случаях, когда срок после последней прививки превышал два года, антитела в сыворотках крови детей были представлены 19-S-макроглобулинами. Однако в ряде сывороток, взятых через два и более года после прививки, появление антител в значимых титрах в динамике исследования при отсутствии агглютининов в первично взятых сыворотках происходило за счет 7-S-глобулинов. Это свидетельствует о возможности переболевания указанных детей и еще раз подтверждает то обстоятельство, что в некоторых коллективах, где диагноз коклюша не был подтвержден бактериологически, имела место циркуляция микробов рода *Bordetella*.

Таким образом, наши наблюдения полностью согласуются с данными А. А. Деминой, А. А. Сумарокова и Н. М. Рыбкиной (1970), которые приходят к заключению, что «условия, поддерживающие эпидемический процесс при коклюше, сохранились, а процент охвата детей противококлюшными прививками не отражает

уровня поствакцинального иммунитета, способного стабилизировать заболеваемость».

Анализ полученных нами данных приводит к выводу, что коклюшеподобные заболевания в г. Харькове в 1969—1971 гг. возникали главным образом через 1—2 года и более после иммунизации. Титр агглютининов в сыворотках крови обследованных в эти сроки был ниже защитного почти в половине случаев. Значимые титры антител в поздние сроки после вакцинации и их нарастание в ряде случаев отмечались за счет 7-S-антител, что указывает на возможность перенесения коклюшеподобного заболевания в стертой форме.

Выявленные факты позволяют высказать предположение о целесообразности пересмотра схем иммунизации современными коклюшными вакцинами.

### **О бактерицидных свойствах сыворотки крови носителей нетоксигенной дифтерийной палочки**

*Л. Ф. Голодюк, Ж. Н. Манина,  
Ц. С. Розина. Харьков*

Благодаря проведению активной иммунизации у нас в стране резко снижена заболеваемость дифтерией (только за последнее десятилетие — более чем в 40 раз) и в настоящее время наблюдаются преимущественно спорадические случаи болезни. На фоне резкого уменьшения числа больных дифтерией особенно возросло эпидемиологическое значение бактерионосителей как источника дифтерийной инфекции. Борьба с бактерионосительством пока не приносит желаемого успеха из-за отсутствия специфических методов лечения, что в свою очередь связано с отсутствием научно обоснованных данных о патогенезе носительства.

В последние годы все чаще высказывается предположение, что формированию и сохранению носительства способствует отсутствие антибактериальных механизмов защиты. В частности, привлекали внимание исследователей агглютинины и бактериолизины как показатели антибактериального иммунитета. Однако реакция агглютинации не может быть удовлетворительным тестом для определения состояния антибактериального иммунитета, так как, во-первых, она недостаточно специфична (положительные результаты встречаются и у здоровых людей) и, во-вторых, недостаточно чувствительна, о чем свидетельствуют отрицательные результаты, полученные не только у многих носителей токсигенных бактерий, но даже у половины больных. Кроме того, общеизвестно, что аг-

глютинины не всегда являются показателем защищенности организма от инфекции (Н. Н. Костюкова, 1971), т. е. агглютинины не отражают действительного состояния антибактериального иммунитета при носительстве дифтерийной палочки (Viborga, 1962; Р. О. Алиева, 1964; В. С. Кузнецова, 1964; Н. Н. Костюкова, 1971).

Исходя из того, что наличие агглютининов не может быть надежным тестом при изучении антибактериального иммунитета, мы поставили перед собой задачу изучить бактерицидные свойства сыворотки крови у носителей дифтерийных палочек. Изучению этого вопроса посвящено немного работ, причем представленные в них данные довольно разноречивы (Г. Е. Арзамасков, 1896; Heggemann, 1935; Ciantini, 1940; Wildführ, 1950; В. Н. Бочкова с соавт., 1969; И. К. Мазурова с соавт., 1971). Heggemann отмечает, что сыворотка крови здоровых и больных дифтерией обладает бактерицидными свойствами в отношении дифтерийной культуры, а Wildführ отрицает наличие бактериолизина в ней. Нет единого мнения и о бактерицидности антитоксической сыворотки. Так, по данным Г. Е. Арзамаскова (1896), противодифтерийная антитоксическая сыворотка обладает специфической бактерицидностью, а В. А. Бочкова с соавт. (1969) не обнаружила в ней каких-либо бактерицидных свойств.

Если по указанным вопросам мнения исследователей расходятся, то они единодушны в оценке значения бактерицидной реакции сыворотки крови при носительстве токсигенной дифтерийной палочки: с возрастанием бактерицидности сыворотки прекращается выделение дифтерийных микробов (В. А. Бочкова с соавт., 1969; И. К. Мазурова, 1971). А тот факт, что сыворотка крови носителей токсигенных дифтерийных палочек в 80—91% случаев не оказывает бактерицидного действия на токсигенный дифтерийный штамм, даже дает основание для проведения дифференциальной диагностики между ангиной при носительстве и истинной дифтерией, при которой сыворотка больных зачастую обладает бактерицидными свойствами (И. К. Мазурова, 1971).

В связи с тем, что в Харьковской области в последние годы почти не регистрируется носительство токсигенной дифтерийной палочки, объектом изучения была сыворотка крови носителей нетоксигенных штаммов, которые находились на излечении в 8-й инфекционной больнице города. Было изучено 237 проб сыворотки крови от 156 носителей (139 детей, привитых против дифтерии согласно возрасту, и 17 взрослых). У части носителей (81) бактерицидные свойства сыворотки крови были изучены в динамике: до и через 7—8 дней после лечения. Кроме того, в качестве контроля изучено 23 сыворотки крови здоровых взрослых людей и 16 —

детей, больных дизентерией Зонне (в возрасте от 1,5 до 13 лет), привитых против дифтерии.

Для изучения бактерицидных свойств сыворотки крови носителей дифтерийной палочки мы воспользовались методикой Jap Karolsek (1969), предложенной для группы кишечных инфекций и примененной в 1969 г. В. А. Бочковой с соавторами при дифтерии. Сущность методики заключается во взаимодействии бактериолизинной сыворотки крови носителей с индикаторным штаммом в присутствии экзогенного комплемента, а сравнение числа колоний, выросших при посеве из контрольной пробирки (культура с комплементом), с числом колоний, выросших при посеве из пробирки, где содержится комплемент, культура и испытуемая сыворотка, позволяет вычислить бактерицидный индекс (БИ):  $БИ = \log \frac{i}{f}$ , где БИ — логарифм отношения числа колоний, выросших из контрольной пробирки  $i$ , к числу  $f$  колоний, выросших на опытной чашке.

В качестве индикаторных штаммов были использованы: токсигенный штамм, 2155, выделенный от больного дифтерией, и атоксигенный, 152 — от носителя. Часть сывороток крови носителей изучали, помимо этого, в реакции бактерицидности с аутоштаммами. В предварительных опытах была определена оптимальная доза суточной культуры (10 000 микробных тел в 1 мл), применение которой давало четкие результаты. К высоко бактерицидным сывороткам были отнесены те, бактерицидный индекс которых превышал 1, к сывороткам с невысокими бактерицидными свойствами — те, бактерицидный индекс которых находился в пределах  $>0 \leq 1$ . Остальные сыворотки не обладали бактерицидной активностью.

Полученные данные были подвергнуты статистической обработке с вычислением средних ошибок и критерия достоверности  $t$ . Различия достоверности средних расценивали как неслучайные при величине  $t$ , превышающей 2,5.

Предварительно мы изучали бактерицидную активность сывороток крови здоровых взрослых и детей, больных дизентерией Зонне (табл. 1). Из приведенных в табл. 1 данных видно, что бактерицидная активность сывороток крови здоровых людей в отношении как токсигенного, так и нетоксигенного штаммов существенно не различается ( $t=1,8$ ) и характеризуется низкими показателями бактерицидного индекса: почти половина сывороток вообще не обладала бактерицидной активностью, а в 52,1—69,5% случаев показатели их активности находились на уровне  $>0 \leq 1$ .

Несколько другой характер имела бактерицидная активность сывороток детей, больных дизентерией Зонне: 75% сывороток не

Бактерицидность сыворотки крови здоровых людей, больных дизентерией, и носителей нетоксигенной дифтерийной палочки

Контингент обследованных	Величина бактерицидного индекса	Индикаторные штаммы					
		токсигенный № 2155		нетоксигенный № 152		аутоштамм	
		Количество сывороток					
		абс.	в % ± m	абс.	в % ± m	абс.	в % ± m
Здоровые взрослые	>1	—	—	—	—	—	—
	>0 < 1	12	52,1 ± 6,9	16	69,5 ± 6,4	—	—
	<0	11	47,9 ± 6,9	7	30,5 ± 6,4	—	—
Дети, больные дизентерией	>1	2	12,6 ± 5,3	—	—	—	—
	>0 < 1	14	87,4 ± 5,3	4	25,0 ± 7,2	—	—
	<0	—	—	12	75,0 ± 7,2	—	—
Носители нетоксигенной дифтерийной палочки	>1	20	16,0 ± 0,9	8	8,0 ± 1,8	2	4,2 ± 1,8
	>0 < 1	64	51,2 ± 2,96	44	44,0 ± 3,3	20	40,7 ± 4,6
	<0	41	32,8 ± 2,8	48	48,0 ± 3,3	27	55,1 ± 4,8

обладали бактерицидностью в отношении нетоксигенной дифтерийной палочки, к токсигенному штамму у них (в 87,4% случаев) обнаруживалась незначительная бактерицидность, а 12,6% сывороток даже характеризовались высокими показателями бактерицидного индекса. По-видимому, это явление связано с тем, что, как правило, в сыворотке крови детей в возрасте от 1,5 до 13 лет (прививаемый возраст) содержатся антитоксины и, возможно, бактериолизины, способные в какой-то мере нейтрализовать токсигенный штамм дифтерийной палочки, так как применяемый для иммунизации дифтерийный анатоксин, по мнению некоторых исследователей (Н. Н. Апанашенко с соавт., 1971), содержит в своем составе какое-то количество бактериальных компонентов дифтерийного микроба.

Таким образом, сыворотки крови здоровых взрослых людей, как правило, характеризовались слабой бактерицидной активностью к токсигенному и нетоксигенному штаммам дифтерийной палочки. Сыворотки крови больных дизентерией детей обладали высокой бактерицидностью к токсигенному штамму в 12,6% случаев, однако в отношении нетоксигенного штамма были слабо активны, как и сыворотки здоровых людей.

В дальнейшем была изучена бактерицидность сывороток крови носителей нетоксигенных штаммов дифтерийной палочки. Представленные в табл. 1 данные показывают, что из 125 сывороток

крови, полученных у больных в момент поступления в стационар, 41 сыворотка вообще не обладала бактерицидной активностью в отношении токсигенного штамма, тогда как 84 сыворотки крови (67,2%) оказались в различной степени бактерицидными. Из 100 сывороток крови, бактерицидность которых изучалась по отношению к атоксигенному штамму, 52 содержали бактериолизины и 48 не обладали бактерицидностью. Бактерицидная активность сывороток крови носителей к аутоштамму существенно не отличалась от бактерицидной активности сывороток к атоксигенному индикаторному штамму ( $t < 2$ ). Таким образом, сыворотки крови 16% обследованных носителей нетоксигенных дифтерийных палочек обладали бактерицидной активностью в отношении токсигенного штамма и были одинаково активны в отношении нетоксигенной дифтерийной палочки и аутоштаммов (8,0 и 4,2%).

Различие бактерицидности, выявляемое с помощью дифтерийных палочек разной токсигенности, возможно, связано с разной типоспецифичностью штаммов, применяемых для изготовления дифтерийного анатоксина, предназначенного для активной иммунизации, и штаммов, обуславливающих носительство. Оказалось, что бактерицидная активность сыворотки крови носителей дифтерийной палочки выше, чем сыворотки здоровых взрослых людей как в отношении токсигенного, так и нетоксигенного штаммов.

У части носителей нам удалось определить бактерицидные свойства сыворотки крови в динамике (табл. 2). С токсигенной культурой изучена 81 сыворотка крови, с нетоксигенной — 77, с

Таблица 2

Результаты изучения бактерицидных свойств парных сывороток крови носителей нетоксигенной дифтерийной палочки

Индикаторные штаммы	Величина бактерицидного индекса	Количество сывороток			
		до лечения		через 7—8 дней после начала лечения	
		абс.	в % ± m	абс.	в % ± m
Токсигенный № 2155	>1	13	16,1±2,8	6	7,4±1,95
	>0≤1	41	50,6±3,8	28	34,6±3,6
	<0	27	33,3±3,5	47	58,0±3,7
Всего		81	100	81	100
Нетоксигенный № 152	>1	5	6,5±1,9	4	5,2±1,7
	>0≤1	35	45,4±3,8	21	27,3±3,4
	<0	37	48,1±3,8	52	67,5±3,6
Всего		77	100	77	100
Аутоштамм	>1	1	3,3±2,1	1	3,3±2,1
	>0≤1	15	50,0±6,1	11	36,7±5,9
	<0	14	46,7±6,1	18	60,0±6,0
Всего		30	100	30	100

## Характер изменения бактерицидности сыворотки крови носителей нетоксигенной дифтерийной палочки

Индикаторные штаммы	Величина бактерицидного индекса	Количество сывороток до лечения	Количество сывороток через 7—8 дней после начала лечения					
			>1		>0<1		<0	
			абс.	в % ± m	абс.	в % ± m	абс.	в % ± m
Токсигенный № 2155	>1	13	1	7,7±4,9	7	53,9±9,3	5	38,4±9,0
	>0<1	41	5	12,2±3,3	14	34,1±4,9	22	53,7±5,3
	<0	27	—	—	7	25,9±5,7	20	74,1±5,7
Атоксигенный № 152	>1	5	2	40,0±14,7	2	40,0±14,7	1	20,0±12,0
	>0<1	35	1	2,9±1,8	13	37,1±5,4	21	60,0±5,5
	<0	37	1	2,7±1,7	6	16,2±4,0	30	81,1±4,3
Аутоштамм	>0	1	1	100	—	—	—	—
	>0<1	15	—	—	9	60,0±8,4	6	40,0±8,4
	<0	14	—	—	2	14,3±6,2	12	85,7±6,2

собственным штаммом — 30. В итоге после проведения исследований оказалось, что в 33,3% проб сыворотки крови бактериолизин не было, в 50,6% их показатели были низкими, а 16,1% сывороток обладали высокой бактерицидной активностью в отношении токсигенного штамма. При повторной титрации сывороток через 7—8 дней после начала лечения обнаружилось, что только в 6 пробах бактериолизина находятся на уровне  $>1$  ( $t=2,5$ ). Уменьшилось количество сывороток, в которых уровень бактерицидной активности был в пределах  $>0<1$  ( $t=3,1$ ), и существенно повысилось (до 58,1%) количество сывороток, не имеющих бактерицидных антител ( $t=2,9$ ).

Несколько иной была динамика бактерицидности по отношению к нетоксигенному и аутоштаммам: количество сывороток с высоким содержанием бактериолизина к обоим штаммам не претерпело существенных изменений, но заметно уменьшилось число сывороток, показатели бактерицидного индекса которых находились на низком уровне (45,4 и 27,3%;  $t=3,6$ ).

Таким образом, бактерицидная активность сывороток крови носителей через 7—8 дней после начала лечения снижалась по отношению ко всем штаммам. Причины этого явления установить не удалось. Возможно, это связано с тем, что больные получали массивные дозы антибиотиков (в основном тетрациклина и эритромицина), которые препятствовали выработке бактериолизина. В связи с этим представляло интерес проанализировать динамику бактерицидного индекса у носителей нетоксигенной дифтерийной палочки по каждой отдельной сыворотке (табл. 3).

Оказалось, что из 13 человек, у которых до лечения бактериолизина определялись в сыворотке крови в высоких титрах ( $> 1$ ), только у 1 сохранился прежний уровень бактерицидной активности к токсигенному штамму. У остальных 12 она либо была невысокой, либо отсутствовала. После лечения у 60% носителей снизилась бактерицидная активность сывороток и в отношении нетоксигенного штамма, вплоть до полной утраты этого свойства. В то же время у части носителей, сыворотка крови которых до лечения обладала низкими бактерицидными свойствами или не имела их вовсе, наблюдалось некоторое повышение бактерицидной активности сыворотки.

Полученные в наших исследованиях данные следует рассматривать как предварительные при изучении такого большого вопроса, как значение антимикробного иммунитета в формировании и продолжительности носительства дифтерийной палочки. По-видимому, основную роль в предупреждении формирования носительства и освобождении от дифтерийных палочек играют не бактериолизины, а антимикробные антитела, накопление которых в организме, возможно, является решающим фактором эффективной борьбы с носительством.

### **Об использовании РПГА для изучения противодифтерийного иммунитета**

*Ж. Н. Макина, В. Д. Черненко. Харьков*

В последние годы для определения состояния массового противодифтерийного иммунитета широко применялась реакция Шика, которая не дает количественного представления об уровне иммунитета, но при помощи которой можно более или менее точно выявить неиммунные контингенты населения. В настоящее время применение этой реакции несколько ограничено в связи с сенсibiliзирующим действием токсина на организм. В условиях формирования напряженного противодифтерийного иммунитета под влиянием высокоэффективных современных препаратов реакция Шика приобретает скорее значение метода контроля за состоянием прививочного дела, чем метода, с помощью которого можно постоянно определять уровень противодифтерийного иммунитета. Классические методы определения содержания дифтерийного анатоксина с помощью реакции Ремера, Иенсена точны, но для их использования нужны лабораторные животные, что доступно не всем практическим лабораториям.

В связи с этим все больше внимания привлекает реакция пассивной гемагглютинации (РПГА). Она исключает необходимость в лабораторных животных, обеспечивает получение быстрого ответа и дает возможность количественно определять содержание антитоксина в минимальном количестве сыворотки крови. Однако широкому внедрению этого метода в практику препятствуют, во-первых, отсутствие централизованного снабжения лабораторий эритроцитарным диагностикумом; во-вторых, лабильность свойств последнего (при хранении активность диагностикума снижается). Кроме того, недостаточно изучен вопрос корреляции между данными, полученными в РПГА и при титрации сывороток крови на животных. По данным исследователей, которые специально занимались сравнительным изучением результатов, полученных этими методами, защитными титрами гемагглютининов можно считать 1 : 160—1 : 320 при четкой реакции (на 3—4 плюса) в первых разведениях сыворотки. Однако полного совпадения результатов титрации сывороток в этих двух реакциях не наблюдается. Л. А. Ильинская и Т. Ф. Радионовская (1968) отмечали расхождение между результатами указанных реакций в 7,9% случаев, в то время как И. И. Сапожников и М. С. Захарова (1966) — в 39,7%.

Мы поставили перед собой задачу изучить возможность широкого использования РПГА в практике для определения уровня противодифтерийного иммунитета. Для этого у всех лиц, бывших под наблюдением, брали из пальца кровь. Полученную сыворотку титровали в РПГА и параллельно — на животных по Ремеру.

В РПГА были применены формализированные баряни эритроциты, обработанные танином и затем сенсibilизированные дифтерийным анатоксином, содержащим 240  $Lf$  в 1 мл. Сыворотки, в зависимости от результатов, полученных в РПГА, разделяли на три группы: в первую входили сыворотки, в которых гемагглютинины не обнаруживались или обнаруживались в очень небольшом количестве (до 1 : 80); во вторую — сыворотки с минимальным защитным уровнем антител (1 : 160—1 : 320); в третью — сыворотки с высоким содержанием антител, что обычно соответствует разведению 1 : 640 и выше.

Предварительные данные, полученные на кроликах, иммунизированных дифтерийным анатоксином и обследованных в различные сроки после иммунизации, показали, что только в двух пробах сыворотки крови обнаруженный уровень титров антитоксина соответствовал уровню гемагглютининов (табл. 1). Так, в одной пробе, в которой отсутствовали гемагглютинины, антитоксин также не выявлялся ( $<0,0005$  АЕ/мл), в другой пробе сыворотки защитный уровень антитоксина ( $\geq 0,03$  АЕ/мл) соответствовал

довольно высокому титру гемагглютининов (1 : 640). В остальных пробах сыворотки крови результаты этих реакций не совпадали: в восьми пробах гемагглютинины определялись в титрах, которые принято считать защитными (1 : 160 и выше), а уровень антитоксина оказался ниже защитного ( $<0,03$  АЕ/мл).

Таблица 1

Результаты титрации сывороток крови кроликов, иммунизированных дифтерийным анатоксином

Содержание гемагглютининов по РПГА	Количество сывороток с содержанием антитоксина по Ремеру			
	$<0,0005$	$>0,0005 \leq 0,005$	$>0,005 < 0,03$	$\geq 0,03$
До 1 : 80	1	—	—	—
От 1 : 160 до 1 : 320	—	1	—	—
От 1 : 640 и выше	3	—	4	1

В дальнейшем нами был изучен при помощи этих двух реакций противодифтерийный иммунитет у подростков. Было обследовано 180 учащихся школ, школ-интернатов и профессионально-технических училищ (табл. 2).

В результате проведенных исследований оказалось, что, по данным РПГА, в 85 пробах сыворотки крови, то есть в 52,8%, гемагглютинины или не выявлялись, или определялись в очень низких титрах (1 : 40—1 : 80). В то же время титрация по Ремеру

Таблица 2

Результаты титрации сывороток крови подростков

Содержание гемагглютининов по РПГА	Общее количество сывороток		Количество сывороток с содержанием антитоксина по Ремеру			
			$<0,03$		$\geq 0,03$	
	абс.	в % $\pm m$	абс.	в % $\pm m$	абс.	в % $\pm m$
До 1 : 80	85	52,8 $\pm$ 5,4	62	72,9 $\pm$ 3,2	23	27,1 $\pm$ 3,2
От 1 : 160 до 1 : 320	28	10,5 $\pm$ 1,6	18	67,4 $\pm$ 6,2	10	35,6 $\pm$ 6,2
От 1 : 640 и выше	67	36,7 $\pm$ 5,9	41	61,2 $\pm$ 4,0	26	38,8 $\pm$ 4,0
Всего	180	100	121	67,3 $\pm$ 2,3	59	32,7 $\pm$ 2,3

показала, что защитные титры антитоксина отсутствуют у 121 человека, то есть у 67,3% обследованных ( $t=4,4$ ).

Гемагглютинины в титрах 1:160 и выше (т. е. в концентрациях, которые принято считать защитными) обнаружены у 47,2% учащихся. При помощи биопробы содержание антитоксина в количестве  $\geq 0,03$  АЕ/мл выявлено у 32,7% из них.

Создается впечатление, что РПГА несколько более чувствительный метод, так как выявляет защитные титры в большем числе случаев. Однако если проследить, как распределяется каждая группа сывороток в зависимости от результатов, полученных обоими методами, то оказывается, что из 85 сывороток с очень низкими титрами в РПГА 62 (72,9%) не имели защитных титров в биопробе, а 23 (27,1%) содержали антитоксина более 0,3 АЕ/мл; 28 сывороток с титрами 1:160—1:320 распределялись соответственно: 18 (67,4%) и 10 (35,6%). И, наконец, из 67 проб сыворотки крови, содержавших гемагглютинины в концентрации 1:640 и выше, 41 (61,2%) не имела защитных титров антитоксина (все различия статистически достоверны).

Кроме того, при сопоставлении результатов биопробы в РПГА отдельно по каждой сыворотке оказалось, что из 180 проб результаты обеих реакций совпали в 57,7%, в 42,3% они расходились. При этом в 20 сыворотках (11,1%) при отсутствии титров гемагглютининов в РПГА определялся защитный уровень антитоксина в реакции Ремера. В 56 пробах (31,1%) при наличии защитных титров гемагглютининов антитоксин определялся в концентрациях  $< 0,03$  АЕ/мл.

Эти данные, как и данные других исследователей, свидетельствуют о том, что широкое внедрение в практику РПГА — доступного, простого метода количественного определения уровня антитоксина, дающего быстрый ответ и исключающего сенсibiliзирующее действие дифтерийного токсина на организме, — возможно только при условии централизованного изготовления диагностикумов со стабильными свойствами и четкой выработки оптимальных условий их применения.

### **Материалы изучения соматических антигенов дифтерийной палочки, полученных фенольным методом**

*А. Ф. Горисюк. Харьков*

Создание высокого уровня массового противодифтерийного иммунитета обусловило прогрессирующее снижение заболеваемости дифтерией и проявление ее в виде спорадических случаев. Однако

на распространенность носительства дифтерийной палочки анти-токсический иммунитет существенного влияния не оказывает (Dudley et al., 1934; М. Б. Фельдман, Л. П. Делягина, 1939; Л. А. Фаворова, Н. Н. Костюкова, 1966; Л. А. Фаворова, 1969; Н. Л. Сухорокова и др., 1971). Бактерионосители же являются потенциальным источником инфекции, таящим опасность заражения неиммунных лиц (например, с постоянными медицинскими противопоказаниями к прививкам) и лиц с недостатком напряженным иммунитетом (например, больных и ослабленных детей).

Причины возникновения и сохранения носительства дифтерийных палочек не ясны. Многие исследователи высказывают предположение, что оно обусловлено отсутствием антибактериального иммунитета (Д. Д. Лебедев, А. И. Титова, 1951; К. В. Пяткин и др., 1965; В. И. Трифонов, Л. А. Фаворова, 1969; В. А. Бочкова и др., 1969; И. К. Мазурова и др., 1971).

Антибактериальный иммунитет при разных формах дифтерийной инфекции изучен чрезвычайно слабо, и до настоящего времени неизвестны многие стороны его формирования и значение в патогенезе дифтерийного носительства. Выяснение этих вопросов требует изучения биологии возбудителя дифтерии, его антигенной структуры, иммунологической значимости отдельных антигенных компонентов. В частности, выделение защитных в отношении дифтерийных бактерий антигенов будет способствовать созданию специфических методов борьбы с носительством.

Целью нашей работы явилось выделение из дифтерийных микробов биологически активных соматических субстанций и изучение их свойств. В данном сообщении приводятся результаты, полученные при изучении соматических антигенов дифтерийных палочек, выделенных фенольным методом, их иммунохимической характеристики, антигенной структуры, а также возможности использования их в серологических реакциях для обнаружения антибактериальных противодифтерийных антител.

Фенольный метод, разработанный для выделения полных антигенов в основном из грамотрицательных микроорганизмов, основан на том, что фенол при невысокой температуре растворяет белки и полисахариды микробных клеток, не изменяя их физико-химических свойств. Возможность получения серологически активных компонентов из дифтерийных палочек при воздействии на них фенола была показана Л. Ф. Голодюк (1970).

Указанным методом мы получили антигены из производственного дифтерийного токсигенного штамма РW-8 вариант Вейсензее и авирулентного штамма № 40, гравис, III серологического типа, выделенного от бактерионосителя.

В литературе есть указания на то, что токсигенные дифтерийные штаммы обладают более полноценным аппаратом соматических антигенов, чем нетоксигенные (Mood, Jones, 1963; Н. Н. Костюкова и др., 1971). Исходя из этого, мы изучали антигены, выделенные из токсигенных и нетоксигенных штаммов, в параллельных опытах.

Бактериальную массу для выделения антигенов получали путем выращивания дифтерийных микробов в жидкой питательной среде (мартевском бульоне) без добавления лошадиной сыворотки в течение 4—5 суток. После отделения микробных клеток от питательной среды при помощи центрифугирования, их трехкратно отмывали физиологическим раствором, дистиллированной водой, ацетоном и высушивали эфиром. Сухие микробные тела растирали в течение 30 минут в подогретой на водяной бане до 60° ступке с расплавленным фенолом (1 мл фенола на 1 г сухих микробов). К полученной липкой массе постепенно добавляли теплую (60°) дистиллированную воду с таким расчетом, чтобы получился 5% раствор карболовой кислоты. После осаждения микробной массы, обработанной карболовой кислотой, надосадочную жидкость ставили на диализ против водопроводной воды. Из полученного экстракта при понижении рН до 4—3,8 выделяли антигенную фракцию кислых белков, а после добавления к экстракту 3—4 объемов этилового спирта выделяли еще одну фракцию, которую условно назвали соматическим антигеном или соматической субстанцией.

Микроскопическое исследование бактерий, обработанных фенолом и отделенных от экстракта, показало, что клетки не изменяли своего расположения и конфигурацию, но окрашивались грамотрицательно. С помощью электронного микроскопирования установлено, что при воздействии фенола на дифтерийную палочку клеточная оболочка ее разбухает и становится рыхлой, тогда как внутриклеточное содержимое изменяется, по-видимому, мало и остается компактным.

Данные микроскопии дают основание предполагать, что полученные нами препараты экстрагированы в основном с поверхностных слоев бактериальной клетки. Однако нельзя считать, что выделенные антигенные субстанции содержат только поверхностные структурные компоненты клетки, так как при спектрофотометрическом анализе отмечается присутствие в них нуклеиновых кислот, которые распределяются по-разному в антигенных фракциях, выделенных из токсигенной и атоксигенной культур (рис. 1).

Абсорбционные спектры соматического антигена токсигенного и фракции кислых белков авирулентного штаммов имеют абсорбционный максимум поглощения в пределах длины волны 260—165 мк (характерный для нуклеиновых кислот), тогда как в абсорбционных спектрах соматического антигена авирулентного штамма и фракции кислых белков токсигенной культуры подобный максимум в пределах этой длины волны не определяется, что свидетельствует об отсутствии в них нуклеиновых кислот.

Кроме того, отмечается разница в количественных соотношениях выхода антигенных фракций из вирулентного и авирулентного штаммов. Так, выход фракции кислых белков из культуры штамма Вейсензее составляет 0,6% сухого веса микробов, а соматического антигена — 3,2%. Из культуры авирулентного штамма № 40 можно получить 2% фракции кислых белков и 0,4% соматического антигена.

Изучение химического состава полученных препаратов показало, что в них содержатся белки, общий азот и редуцирующие вещества (табл. 1).

Из табл. 1 видно, что соматические антигены штаммов Вейсензее и № 40 значительно отличаются от фракций кислых белков этих же культур по содержанию редуцирующих веществ — они, по-видимому, более богаты полисахаридами.

Летальные и дермонекротические свойства выделенных антигенных препаратов изучали в опытах на морских свинках и кроликах. Оказалось, что они безвредны при внутрисердечном введении морским свинкам в дозе 10 мг. На внутрикожное введение самых высоких концентраций каждого препарата, которые можно было получить при их растворимости 2 мг сухой навески вещества в 0,2 мл физиологического раствора, подопытные животные

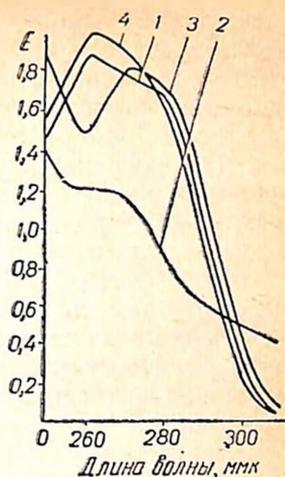


Рис. 1. Адсорбционные спектры антигенных фракций дифтерийных палочек:

1 — соматический антиген Вейсензее; 2 — фракция кислых белков Вейсензее; 3 — соматический антиген 40; 4 — фракция кислых белков 40.

Таблица 1  
Химический состав соматических антигенов и фракций кислых белков дифтерийных палочек

Препарат	Общий азот, % (по Кьельдалю)	Белок, % (по Лоури)	Редуцирующие вещества, % (по Хагедорну и Иенсену), свободные
Соматический антиген Вейсензее	8,2	48,3	1,0
Соматический антиген 40	10,0	30,6	1,02
Фракция кислых белков Вейсензее	—	14,0	0,18
Фракция кислых белков 40	9,8	45,2	0,54

реагировали только гиперемией кожи и незначительным инфильтратом, исчезавшими через 2—3 суток. Результаты этих опытов дают основание считать, что соматические антигены и фракции кислых белков, выделенные из культуры вирулентного и авирулентного дифтерийных штаммов, не содержат токсина.

Для изучения серологических свойств соматических антигенов и фракций кислых белков использовали противодифтерийную сыворотку Диаферм-3, так как известно, что эта сыворотка содержит, наряду с антитоксином, большое количество антибактериальных антител (Barbag, Calalb, 1963). Кроме того, были использованы антимикробные сыворотки, полученные нами при иммунизации кроликов соматическим антигеном Вейсензее и соматическим антигеном 40. Иммунизацию кроликов проводили путем внутривенного введения антигенов в возрастающих дозах — от 1 до 20 мг — тремя циклами (цикл — три дня подряд) с трехдневными интервалами между ними. Через месяц после окончания третьего цикла иммунизации кроликов ревакцинировали: трижды внутривенно вводили соматические антигены (по 10—15 мг) с семидневными интервалами между инъекциями. Через 7 дней с момента последнего введения препарата у животных брали кровь для получения сыворотки.

В процессе изготовления антибактериальных сывороток было отмечено, что при равных условиях иммунизации соматический антиген, выделенный из авирулентного штамма, обладал более слабой антигенной активностью, чем соматический антиген, полученный из вирулентного штамма. Так, антитела к соматическому антигену Вейсензее появлялись в процессе иммунизации значительно раньше и дольше удерживались в сыворотке крови кроликов, чем антитела к соматическому антигену авирулентного штамма.

На всех этапах иммунизации титры антител к соматическому антигену вирулентной культуры значительно превышали титры антител к соматическому антигену авирулентного штамма.

Анализ зависимости антигенных свойств выделенных из дифтерийных бактерий фракций от наличия в них нуклеиновых кислот показал, что препараты, содержащие эти кислоты, обладают более высокой антигенной активностью.

Серологическое изучение антигенных фракций проводили в опытах диффузной преципитации в агаровом геле, в реакциях агглютинации и пассивной гемагглютинации. Для постановки реакции пассивной гемагглютинации готовили диагностикумы из бараньих формализированных эритроцитов, обработанных таннином 1 : 20 000, сенсibiliзируя их отдельно соматическим антигеном Вейсензее и соматическим антигеном 40.

Результаты преципитации соматических антигенов и фракций кислых белков с противодифтерийной сывороткой Диаферм-3 в агаровом геле показали (рис. 2), что все изучавшиеся препараты являются комплексными, то есть состоят из нескольких антигенов. Так, соматический антиген вирулентного штамма образует с этой сывороткой 4—5 линий преципитации (количество линий зависит от серии сыворотки), фракция кислых белков этого же штамма — две линии. Фракция кислых белков авирулентного штамма 40 с сывороткой Диаферм-3 преципитирует 3—4 линиями, а соматический антиген авирулентного штамма — одной слабовыявляющейся линией. Максимальное количество полос преципитации (три) соматический антиген авирулентного штамма давал только с гомологичной сывороткой.

Фракции кислых белков и соматические антигены вирулентного и авирулентного штаммов содержат один общий антиген, который содержится также в дифтерийном анатоксине и выявляется реакцией преципитации этих антигенных препаратов с противодифтерийной сывороткой Диаферм-3 и антисыворотками к соматическим антигенам одной сливающейся линией. Этот антиген термостабилен (не разрушается при кипячении в течение одного часа) и является групповым, так как он выявлен и в прогретых при 100° культурах вирулентного дифтерийного штамма № 2155, авирулентного дифтерийного штамма № 3545, авирулентного дифтерийного штамма № 40, ложнодифтерийной палочки Гофмана и дифтеронда 625 (рис. 3).

Кроме группового антигена, в соматических субстанциях штаммов Вейсензее и № 40 содержатся еще антигены, обладающие видовой и узкой типовой специфичностью. Эти антигены термолабильны, чем отличаются от группового антигена и между собой. Так, антигены, характеризующиеся узкой типовой специфичностью, разрушаются при кипячении в течение 20 минут, тогда как видовые сохраняются в этих условиях, но разрушаются при кипячении в течение часа. Типовые антигены утрачивают свою активность и при хранении в условиях холодильника на протяжении 2 лет.

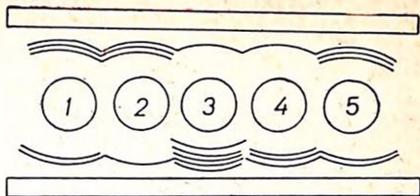


Рис. 2. Преципитация в агаровом геле антигенных фракций и дифтерийного анатоксина с иммунными сыворотками. В верхней канавке — антисыворотка к соматическому антигену 40, в нижней — противодифтерийная сыворотка Диаферм-3. В лунках:

1 — фракция кислых белков 40; 2 — соматический антиген 40; 3 — дифтерийный анатоксин; 4 — соматический антиген Вейсензее; 5 — фракция кислых белков Вейсензее.

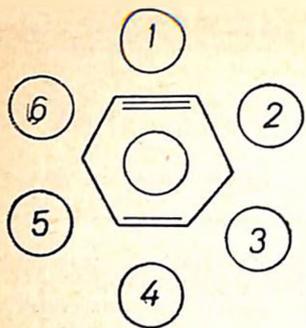


Рис. 3. Иммунологическая идентичность группового антигена различных штаммов рода *Corynebacterium*. В центральной лунке — антисыворотка к соматическому антигену 40. По краям:

1 — соматический антиген 40; 2 — авирулентный дифтерийный штамм 3545; 3 — авирулентный дифтерийный штамм № 40; 4 — вирулентный дифтерийный штамм № 2155; 5 — ложнодифтерийная палочка Гофмана 2115; 6 — дифтероид 625.

Идентификацию видовых и типовых антигенов в соматических субстанциях мы проводили в опытах перекрестной адсорбции антисывороток к этим субстанциям гомологичными (то есть теми, из которых были получены антигены) и гетерологичными штаммами.

Из антисывороток к соматическим субстанциям Вейсензее и № 40 антители сорбировались полностью гомологичными культурами, тогда как гетерологичные дифтерийные штаммы сорбировали эти сыворотки частично (табл. 2). Так, после сорбции антисыворотки к соматической субстанции Вейсензее авирулентным дифтерийным штаммом № 3545 она утрачивала способность агглютинировать дифтероиды (штамм № 625), ложнодифтерийную палочку Гофмана (штамм № 2115) и авирулентный дифтерийный штамм № 40, но в низких титрах агглютинировала гомологичный штамм Вейсензее. Антисыворотка к соматической субстанции 40, сорбированная дифтерийным штаммом Вейсензее, также не агглютинировала дифтероиды, ложнодифтерийную палочку Гофмана и штамм

Вейсензее, но агглютинировала дифтерийный вирулентный штамм № 2155 и гомологичный штамм № 40.

Результаты опытов преципитации в агаровом геле сорбированных сывороток с гомологичными антигенами дают основание предположить, что при сорбции этих сывороток гетерологичными штаммами из них извлекаются групповые и видовые антители. Так, антисыворотка к соматической субстанции Вейсензее, сорбированная авирулентным дифтерийным штаммом № 3545, образует с гомологичным антигеном одну линию преципитации; после сорбции этой сыворотки культурой дифтероида 625 образуется две линии (вместо трех, образуемых до сорбции). Подобные результаты получены и в опыте преципитации соматической субстанции 40 с гомологичной сывороткой после сорбции ее гетерологичными культурами.

Изучая природу антигенов клеточной оболочки дифтерийной палочки, Simmins (1954) пришел к выводу, что ответственны за агглютинацию неповрежденных дифтерийных бактерий типовые антигены, а групповой антиген вызывает агглютинацию только разрушенных бактерий.

Таблица 2

Результаты изучения антибактериальных сывороток (до и после сорбции) в реакции агглютинации, РПГА и преципитации

Иммунные сыворотки	Титры* сывороток в реакции агглютинации со штаммами						Титры* сывороток в РПГА к гомологичному антигену	Количество линий преципитации с гомологичными антигенами
	дифтерийная палочка							
	Вейсензее	авирулентная 2155	авирулентная 3545	авирулентная 40	ложнодифтерийная палочка Гофмана 2155	дифтероида 625		
Антисыворотка к соматической субстанции Вейсензее								
Не сорбированные	800	100	800	200	50	100	320 млн.	3
Сорбированные	0	0	0	0	0	0	0	0
культуры Вейсензее								
авирулентной палочкой 3545	100		0	0	0	0	1 млн.	1
палочкой Гофмана 2115	0	0	0	0	0	0	10 млн.	2
дифтероидом 625	0	0	0	0	0	0	20 млн.	2
Антисыворотка к соматической субстанции 40								
Не сорбированная	200	200	100	100	100	200	40 960	3
Сорбированные								
авирулентной палочкой 40	0	0	0	0	0	0	0	0
культурой Вейсензее	0	50		50	0	0	5120	1
палочкой Гофмана 2115	0	0	0	0	0	0	10 240	2
дифтероидом 625	0	0	0	0	0	0	10 240	2

\* Обратные величины титров.

Мы получили противоположные результаты. Так, антисыворотки к соматическим субстанциям после сорбции их дифтероидами и ложнодифтерийными палочками Гофмана утрачивали способность агглютинировать все штаммы, взятые в опыт (в том числе и гомологичные), тогда как в реакции пассивной гемагглютинации с использованием в качестве диагностикума эритроцитов, сенсibilизированных гомологичными антигенами, в этих сыворотках определялись антитела в достаточно высоких титрах. По сравнению с несорбированными сыворотками в них титры снижались после сорбции только на три — пять разведений.

Типоспецифичность антител, выявляемых РПГА в сорбированных гетерологичными культурами антибактериальных сыворотках, четко определяется и при преципитации этих сывороток с гомологичными субстанциями — они преципитируют одной-двумя линиями, а с гетерологичными антигенами не реагируют.

Таким образом, на основании полученных данных можно сделать вывод, что антигенные структуры соматической субстанции вирулентного штамма Вейсензее и авирулентного штамма № 40 подобны — обе субстанции состоят из группового антигена, видовых антигенов и антигенов, обладающих узкой типовой специфичностью.

Результаты изучения иммунных антибактериальных сывороток в реакции пассивной гемагглютинации с использованием эритроцитов, сенсибилизированных соматическими антигенами штамма Вейсензее и штамма № 40, дали основание применить эти диагностикумы для выявления антибактериальных антител у носителей авирулентных дифтерийных палочек. С этой целью нами были изучены в РПГА сыворотки крови 169 носителей, которым проводили санацию в стационаре. К сожалению, момент начала носительства установить не удалось.

Полученные результаты показали, что антитела к соматическому антигену Вейсензее выявлялись в титрах 1 : 40—1 : 160 у 36% обследованных, в титрах 1 : 320—1 : 81 960—у 46,7% и у 17,3% эти антитела отсутствовали. Антитела к соматическому антигену авирулентного штамма № 40 выявлялись в разведении 1 : 40—1 : 150 у 22,4% обследованных, в разведении 1 : 320 и выше — у 37,0% и отсутствовали у 40%.

Повторно (через 7—8 дней) был обследован 121 носитель. Нарастание титров антител к соматическому антигену Вейсензее (на два разведения и больше) было обнаружено у 12 детей, снижение — у 18; к соматическому антигену 40 — соответственно у 6 и 17 обследованных.

Наличие антител к соматическим субстанциям в сыворотках носителей дифтерийных палочек служит еще одним показателем антигенной активности этих препаратов и свидетельствует о том, что соматические антигены, полученные фенольным методом из вирулентного Вейсензее и авирулентного № 40 дифтерийных штаммов, можно использовать в РПГА для определения противодифтерийных антибактериальных антител.

## Формирование противодифтерийного иммунитета при иммунизации кроликов соматическими антигенами дифтерийной палочки и дифтерийным анатоксином

*А. Ф. Горисюк, Л. Ф. Голодюк. Харьков*

По мнению ряда исследователей, заболевание дифтерией обусловливается отсутствием не только антитоксической, но и антибактериальной защиты (Hirschfeld и др., 1924; Bohme, 1929; А. Е. Тебякина, 1939; Frobisher, Parsons, 1943, 1950; Ю. В. Соловьева, А. А. Константинова, 1941; К. Д. Пяткин, 1959, и др.). Но так как в патогенезе этой инфекции ведущая роль принадлежит токсическому фактору, то главное внимание в проводившихся научных изысканиях по разработке методов профилактики и лечения дифтерии уделялось антитоксическому иммунитету. В этом направлении достигнуты значительные успехи, выражающиеся, в частности, в том, что заболеваемость дифтерией носит в настоящее время в основном спорадический характер.

Что касается антимикробного противодифтерийного иммунитета, то многие связанные с ним вопросы до сих пор остаются недостаточно выясненными. В современных условиях, когда создан достаточно высокий уровень массового антитоксического иммунитета, широкое распространение бактерионосительства дифтерийной палочки, которое в условиях спорадической заболеваемости является основным источником инфекции и борьба с которым очень трудна, диктует необходимость изучения факторов, обуславливающих формирование антимикробного иммунитета, его значения в патогенезе дифтерии и носительства.

Выяснение роли отдельных антигенных компонентов дифтерийной палочки в формировании противодифтерийного иммунитета, выделение наиболее иммуногенных фракций соматических субстанций будет способствовать разработке специфических методов борьбы с носительством.

В рассматриваемом аспекте представляет интерес выяснение вопроса о степени формирования антибактериального иммунитета (раздельно к токсигенным и нетоксигенным бактериям) при иммунизации дифтерийным анатоксином, так как известно, что последний содержит примеси бактериальных антигенов (Eaton, 1937; Ю. А. Хавкин с соавт., 1963; М. В. Далин, 1966; Н. Н. Хлебникова, Н. И. Апанашенко, 1970; Н. И. Апанашенко с соавт., 1971). Это было подтверждено данными, полученными нами в реакции преципитации между противодифтерийной сывороткой Диаферм-3, с одной стороны, и соматическими антигенами дифтерийной палочки

и дифтерийным анатоксином — с другой, когда взятые в опыт антигены преципитировали общей линией, отличной от преципитата, обусловленного экзотоксином.

В настоящей работе мы поставили перед собой задачу проследить за формированием антибактериального иммунитета в эксперименте при введении животным соматического антигена дифтерийной палочки и дифтерийного анатоксина. Это стало возможным после обработки условий приготовления эритроцитарных диагностикумов для РПГА, которая используется для изучения уровня антимикробного иммунитета.

Для сенсibilизации эритроцитов применяли выделенные нами фенольным методом соматические антигены дифтерийной палочки и дифтерийный анатоксин (сер. 95 с содержанием 240  $Lf/ml$ ).

Эритроцитарные диагностикумы готовили из бараньих формализированных по методу Feeley с соавт. (1958) эритроцитов, обработанных таннином 1 : 20 000, сенсibilизируя их отдельно: а) дифтерийным концентрированным анатоксином; б) соматическим антигеном вирулентной культуры Вейсензее и в) соматическим антигеном авирулентного штамма № 40.

Дифтерийный анатоксин для сенсibilизации брали из расчета 20  $Lf$  на 1  $мл$  2,5% взвеси эритроцитов. Оптимальная сенсibilизирующая доза соматических антигенов была подобрана в предварительных опытах и составляла 1  $мг$  антигена на 1  $мл$  эритроцитов.

Условия сенсibilизации эритроцитов дифанатоксином и соматическими антигенами, их последующая обработка и постановка РПГА были сходными и заключались в следующем. Отмытые эритроциты после обработки их таннином взвешивали в буферном физиологическом растворе рН 6,4, доводя их концентрацию до 2,5%. К этим эритроцитам прибавляли необходимое количество дифтерийного анатоксина или соматических антигенов, растворенных также в буферном растворе. Смесь эритроцитов с антигенами выдерживали 4 часа в термостате при 37° и 18 часов — в холодильнике. За час до окончания сенсibilизации добавляли 1% формалина. Затем эритроциты трижды промывали пятью-шестью объемами буферного физиологического раствора рН 7,2 и один раз — таким же буферным раствором, но содержавшим 0,25% прогретой при 56° в течение 30 минут нормальной кроличьей сыворотки. Отмытые сенсibilизированные эритроциты ресуспендировали до концентрации 2,5% в физиологическом буферном растворе рН 7,2 с 0,25% прогретой кроличьей сыворотки и добавляли 1% формалина.

Активность эритроцитов, сенсibilизированных анатоксином, проверяли со стандартной противодифтерийной сывороткой, а эритроцитов, сенсibilизированных соматическими антигенами, — с антибактериальными гомологичными сыворотками, хранившимися в холодильнике в высушенном состоянии. Активность эритроцитов сохранялась в течение 4—5 месяцев.

Проверку специфичности результатов, полученных в РПГА, осуществляли в РГПГА. С этой целью для нейтрализации антител к каждому разведению исследуемой сыворотки добавляли 0,8 Lf анатоксина или 0,04 мг соответствующего соматического антигена. Результаты РПГА считали специфичными, если титры гомологичных антител при нейтрализации снижались на 7—8 разведений, а с гетерологичными антигенами не изменялись.

Для определения содержания антитоксина в сыворотках крови, помимо РПГА, применяли реакцию Ремера (в модификации Халыпиной). Кроме того, для идентификации антигенного спектра препаратов, взятых для иммунизации животных, применяли реакцию преципитации в геле с полученными сыворотками.

Опыты проводили на кроликах, которых иммунизировали следующими препаратами: 1) соматическим антигеном, полученным из культуры производственного токсигенного штамма РW-8, вариант Вейсензее; 2) соматическим антигеном авирулентного штамма № 40, выделенного от бактерионосителя; 3) очищенным несорбированным дифтерийным анатоксином. Антигены для введения брали в возрастающих дозах (от 1 до 20 мг). Дифтерийный анатоксин вводили в количествах, соответствовавших по содержанию белка взятым дозам соматических антигенов и содержавших от 0,3 до 5,5 Lf.

Иммунизацию проводили тремя циклами (ежедневно три дня подряд) с трехдневными интервалами между ними. Для изучения иммунологических сдвигов в динамике у животных брали кровь до начала иммунизации, в процессе ее, а также в различные сроки после окончания иммунизации (в течение трех месяцев).

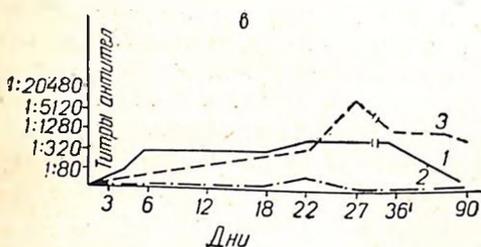
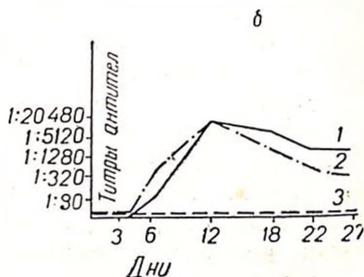
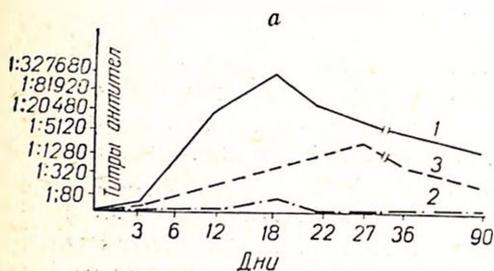
Результаты исследования иллюстрируются приводимыми ниже графиками (рисунки).

В сыворотке крови подопытных кроликов определяли содержание антитоксина и антибактериальных антител к антигенам из вирулентных и авирулентных дифтерийных палочек.

При введении кроликам соматического антигена Вейсензее антитела к гомологичному антигену появляются в сыворотке крови уже после первого цикла иммунизации (4—6-й день) сначала в очень низких титрах, но к началу второго цикла средние титры антител достигают 1 : 160. К окончанию иммунизации количество антител резко возрастает и на 14—15-й день они выявляются даже в разведении 1 : 20 480, а через неделю после последнего введения антигена — 1 : 163 840. Однако в течение последующих 7—10 дней содержание антител к соматической субстанции Вейсензее заметно снижается, а затем, несколько стабилизировавшись, держится в течение последующих 1,5 месяца на уровне 1 : 5120—1 : 2560; через

3 месяца антитела определялись в титре 1 : 1280. Антитела, выявляемые с помощью эритроцитов, сенсibilизированных соматической субстанцией 40, появлялись только после окончания иммунизации (через 4 дня) в очень низких титрах (1 : 40) и удерживались на протяжении всего 3 дней (см. рисунок).

Выработка антител, агглютинирующих эритроциты, сенсibilизированные дифтерийным анатоксином, у животных этой группы заметно отставала от накопления антител к гомологичному антигену: после окончания иммунизации (на 15-й день) они выявлялись в невысоких титрах. В течение последующих 7—14 дней количест-



Динамика концентрации антител у кроликов, иммунизированных:

а — соматическим антигеном Вейсензее; б — соматическим антигеном 40; в — дифтерийным анатоксином.

1 — антитела, выявляемые эритроцитами, сенсibilизированными антигеном Вейсензее; 2 — антитела, выявляемые эритроцитами, сенсibilизированными антигеном 40; 3 — антитела, выявляемые эритроцитами, сенсibilизированными дифанатоксином.

во их достигало максимума (1 : 2560), удерживалось на этом уровне 2—2,5 недели, а затем снижалось — через 1,5 месяца до 1 : 320, через 3 месяца — 1 : 160.

Параллельная титрация сывороток крови в реакции Ремера показала, что антитоксин в изученных пробах либо вовсе не обнаруживался (то есть его было  $< 0,0005$  АЕ/мл), либо определялся в минимальных титрах ( $> 0,0005 < 0,005$  АЕ/мл).

Животные, иммунизированные соматическим антигеном авирулентного штамма № 40, в течение первого цикла иммунизации оставались иммунологически инертными, на 6—7-й день в сыворотке их крови появлялись антитела к гомологичному антигену (1 : 320) и к антигену Вейсензее (1 : 80, см. рисунок). К началу третьего цикла иммунизации (12-й день) титры уравнивались и достигали

максимума (1 : 20480). В дальнейшем содержание антител снижалось, несмотря на проведение третьего цикла иммунизации, причем в отношении гомологичного антигена (из авирулентного штамма) это снижение было более интенсивным. РПГА с эритроцитами, сенсibilизированными дифтерийным анатоксином, была отрицательной, что подтвердилось и в реакции Ремера.

При иммунизации кроликов дифтерийным анатоксином одновременно с антитоксическим иммунитетом шло формирование и антибактериального иммунитета, выявляемого в РПГА с эритроцитами, сенсibilизированными антигеном Вейсензее, причем интенсивность продукции антибактериальных антител после первого цикла иммунизации примерно в 2 раз превышала накопленные антитоксина. После окончания иммунизации титры антитоксина продолжали нарастать еще в течение 2 недель. К этому сроку они достигли максимума (1 : 10240), после чего их уровень начал постепенно снижаться, но через 3 месяца был еще достаточно высоким — 1 : 160 (см. рисунок). Эти данные были подтверждены результатами реакции Ремера.

Концентрация антител к соматическому антигену Вейсензее после окончания иммунизации была примерно одинаковой в течение 3 недель, после чего резко снизилась, и к концу наблюдения (через 3 месяца) эти антитела почти не выявлялись. К соматическому антигену штамма № 40 антитела появлялись через 7 дней после окончания иммунизации, определялись в невысоких титрах (1 : 40) и быстро исчезали (через 5—7 дней).

При исследовании в реакции преципитации сывороток крови подопытных животных, иммунизированных соматическими антигенами, установлено, что эти сыворотки образуют с гомологичными антигенами 2—3 линии преципитации. Одна из линий является общей у антигена вирулентного штамма Вейсензее и у антигена авирулентного штамма № 40. Эта линия сливается также с одной линией, образуемой дифтерийным анатоксином с антисывороткой к соматическому антигену. На основании полученных данных можно сделать вывод, что соматические субстанции, полученные из вирулентного и авирулентного штаммов, содержат общий антиген. Этот антиген содержится и в дифтерийном анатоксине и вызывает образование антибактериальных антител при иммунизации последним.

Проведенные исследования показали, что при иммунизации кроликов соматическими антигенами Вейсензее и № 40 можно получить иммунные сыворотки, обладающие гемагглютинационными и преципитирующими свойствами. Соматический антиген, полученный из авирулентного штамма, обладает более слабой антигенностью, чем соматическая субстанция вирулентного штамма. При иммуни-

зации дифтерийным анатоксином идет формирование, наряду с антитоксическим, и антибактериального иммунитета, который, однако, снижается после окончания иммунизации гораздо быстрее, чем антитоксический.

Антимикробный иммунитет, формирующийся при введении соматических антигенов, также после окончания иммунизации начинает быстро снижаться, особенно после иммунизации антигеном из авирулентной культуры.

### **Взаимосвязь специфических и неспецифических факторов иммунитета при иммунизации комплексным препаратом против анаэробных инфекций**

*О. И. Зимица, С. Я. Исаева, В. И. Чернявский,  
О. Т. Полченко. Харьков*

Иммунизация ассоциированными препаратами приобретает широкое распространение в комплексе профилактических мероприятий против различных инфекций. Между тем влияние вакцинации на функции организма выяснено недостаточно. Представляет интерес изучение состояния неспецифических защитных механизмов, определяющих естественную резистентность в процессе специфической иммунологической перестройки организма, а также белковых фракций сывороток крови и нуклеиновых кислот в иммунокомпетентных органах и крови при иммунизации комплексными препаратами.

В литературе встречаются единичные работы, посвященные изучению некоторых факторов иммунитета в процессе иммуногенеза при иммунизации монопрепаратами. А. М. Волков (1949—1950), М. В. Исполатовская (1960), И. И. Райзер (1960), М. А. Торбан (1962) и др. показали прямую зависимость между величиной защитных титров антител в сыворотке лошадей и увеличением  $\gamma$ - и альбуминовой фракций при получении антитоксических гипериммунных сывороток. Исследованиями Л. Г. Элколина (1963), С. Н. Тепловой (1966), Е. Ф. Фидельман (1965), Д. С. Плещитой и М. И. Мирисмаилова (1968) установлено, что иммунологическая перестройка организма и формирование активного искусственного иммунитета сопровождаются сдвигами в состоянии механизмов, участвующих в поддержании естественной резистентности, в частности, в продукции и регуляции содержания в слюне и крови защитного фермента лизоцима.

В теоретической иммунологии большое внимание уделяется изучению обмена нуклеиновых кислот. Выяснение роли и меха-

низмов их участия в синтезе белка послужило основанием для изучения этих соединений в процессе антителообразования, представляющем частный случай белкового синтеза (А. С. Конникова, М. Т. Крицман, 1965; А. С. Спириин, 1965; И. Б. Збарский, С. С. Дебова, 1968; А. С. Спириин, Л. П. Гаврилова, 1968). Большой интерес представляет изучение результатов вакцинации ассоциированными препаратами. Исследование взаимосвязи между этими факторами и процессом антителообразования позволит шире представить механизм иммуногенеза, что особенно важно при применении новых ассоциированных препаратов.

Целью настоящей работы явилось изучение процесса взаимосвязи специфических и неспецифических факторов иммунитета с антителогенезом при иммунизации комплексным препаратом против анаэробных инфекций. В качестве препарата для активной иммунизации был применен комплексный препарат — секстаанатоксин, разработанный сотрудниками анаэробного отдела нашего института. Секстаанатоксин состоит из смеси очищенных концентрированных анатоксинов перфрингенс 50 ЕС, эдематиенс 15 ЕС, столбнячного 20 ЕС и ботулинического типов А и Е по 10 ЕС и типа В — 2,5 ЕС, адсорбированных на гидроксид алюминия. В качестве экспериментальных животных использовали морских свинок и белых мышей. Препарат вводили в дозе 1 мл двукратно, подкожно с интервалом между инъекциями 21 день.

Для определения фракционного состава белков сыворотки крови, гемоглобина, лейкоцитов, лизоцима, нуклеиновых кислот и антитоксина у животных брали кровь в динамике — через 1, 3, 7, 14 и 21 сутки после каждого введения препарата.

Вначале нас интересовал фракционный состав белков сыворотки крови животных. Опыты проводились на морских свинках. Для определения фракционного состава белков сыворотки крови животных использовали электрофоретический метод.

Исследование показало, что увеличение содержания  $\beta$ - и  $\gamma$ -глобулиновых фракций в сыворотках иммунизированных животных достигает максимума между 21-м и 30-м днем после основной иммунизации, что соответствует максимальному подъему титров антитоксинов. На 14-й день после введения ревакцинирующей дозы препарата во фракционном составе сыворотки крови животных существенно увеличивалась альбуминовая фракция, а также глобулиновая за счет  $\gamma$ -глобулиновой фракции. Установленное после ревакцинации незначительное увеличение  $\beta$ -глобулиновой фракции по сравнению с этой фракцией в процессе иммунизации, видимо, можно объяснить тем, что в процессе иммунизации комплексным препаратом наряду с синтезом специфических глобули-

нов происходит синтез неспецифических, в данном случае  $\gamma$ -глобулинов.

Полученные результаты показали определенную зависимость между образованием антитоксинов при активной иммунизации секстаанатоксином и изменением  $\beta$ - и  $\gamma$ -глобулиновых фракций в сыворотках иммунизированных животных.

Дальнейшие наши исследования были посвящены определению лизоцима в сыворотке крови иммунизированных морских свинок с помощью методики, основанной на высокой чувствительности к действию лизоцима *Micrococcus lysodeiaticus*. Титром лизоцима считалось наибольшее разведение сыворотки, при котором происходит растворение 50% взвеси микробов. Количество лизоцима изучали в динамике через 1, 2, 3, 4 и 5 месяцев после основной иммунизации, а также после ревакцинации.

Полученные результаты свидетельствуют об обратной зависимости между содержанием лизоцима в сыворотке иммунизированных животных и наличием в них антитоксина. Особенно резкое снижение титра лизоцима наблюдалось после второй инъекции, что совпадало с содержанием антитоксина в высоких титрах. Изучение лизоцима в динамике на протяжении 5 месяцев показало стабильность его титров. Через 6 месяцев после основной иммунизации титр лизоцима повышался, приближаясь к титру в сыворотке животных контрольной группы. В этот период антитоксины почти не определялись. Проведенная ревакцинация в десятки раз повышала титры антитоксинов, при одновременном значительном (в 2 раза) снижении титра лизоцима.

Изучение неспецифических факторов иммунитета проводили одновременно с определением антитоксинов в сыворотке животных путем титрации на белых мышах общепринятым методом.

Максимальное увеличение всех видов антитоксинов отмечалось на 14-й день после основной иммунизации. На протяжении 5 месяцев титры всех видов антитоксинов находились на высоком уровне, превышая защитные в 5 раз. Проведенная через 5 месяцев ревакцинация вызвала образование антитоксинов, в десятки раз превышающее их титры до ревакцинации (табл. 1).

Для выяснения зависимости между продукцией антител при иммунизации секстаанатоксином и обменом нуклеиновых кислот проведено суммарное определение количества нуклеиновых кислот в крови и тканях животных, подвергавшихся антигенному воздействию. Количество нуклеиновых кислот определяли по методу Спирина.

Опыты поставлены на 150 белых мышах. Животные получали препарат двукратно с интервалом между инъекциями 21 день. Для определения нуклеиновых кислот у животных брали кровь, лим-

Титры антитоксинов в сыворотке крови морских свинок, иммунизированных секстаанатоксином (средние данные,  $P < 0,05$ )

Вид антигена	Содержание антитоксинов (в МЕ/мл) в сыворотке животных после						
	1-й инъекции ( $\bar{x} \pm S\bar{x}$ )	2-й инъекции ( $\bar{x} \pm S\bar{x}$ )	первичной иммунизации в динамике, через дни				на 14-й день после ревакци- нации
			30	60	90	180	
Перфрингенс	$<0,1 \pm 0$	$0,3 \pm 0,1$	0,2	$<0,05$	$<0,05$	$<0,05$	$0,5 \pm 0,1$
Эдематигенс	$0,04 \pm 0,008$	$0,1 \pm 0,02$	0,2	0,15	0,08	0,04	$2,0 \pm 0,47$
Столбнячный	$0,15 \pm 0,06$	$3,0 \pm 0,57$	4,6	4,17	1,3	0,2	$20,0 \pm 3,0$
Ботулинический							
типа А	$<0,03$	$0,2 \pm 0,03$	0,4	0,4	0,2	0,04	$0,6 \pm 0,2$
» В	$0,009 \pm 0,001$	$0,1 \pm 0,04$	0,08	0,46	0,16	0,02	$0,3 \pm 0,09$
» Е	$<0,02$	$0,07 \pm 0,02$	0,2	0,05	0,02	0,02	$1,9 \pm 0,4$

фатические узлы и селезенку через 1, 3, 7, 14 и 21 сутки после введения препарата.

Полученные результаты свидетельствуют о значительном увеличении суммарного количества нуклеиновых кислот в селезенке и лимфатических узлах в 1-е сутки, а также на 7-е после первой и на 14-е сутки после второй инъекции секстаанатоксина. Резкое увеличение количества нуклеиновых кислот в 1-е сутки после введения антигена можно рассматривать как неспецифическое действие антигена на процесс синтеза белка. Аналогичное усиление неспецифического синтеза под влиянием антигена наблюдали И. Я. Учитель и А. С. Комкова (1955), М. А. Фролова с соавт. (1964). Это, видимо, обусловлено влиянием антигена на нуклеиновую матрицу клеток лимфоидной ткани. Повторное увеличение содержания нуклеиновых кислот на 7—14-й день связано с синтезом специфических белков-антител под влиянием антигена, а также с размножением клеток плазматического ряда. Это подтверждается нарастанием нуклеиновой кислоты в регионарном — правом лимфоузле (место введения антигена), играющем главную роль в образовании антитоксинов (табл. 2).

Результаты опытов позволили установить, что количественное изменение содержания нуклеиновых кислот отражает как специфическую, так и неспецифическую фазы иммунологической перестройки организма под влиянием комплексного препарата.

Изучение специфических и неспецифических факторов иммунитета, а также белковых фракций и нуклеиновых кислот в крови и иммунокомпетентных органах при активной иммунизации

Содержание нуклеиновых кислот в крови и органах белых мышей, иммунизированных секстаанатоксином

Исследованный материал	Содержание нуклеиновых кислот (мг/100 мл) после									
	1-й инъекции, через сутки					2-й инъекции, через сутки				контроль
	1	3	7	14	21	1	3	7	14	
Кровь	150,5	152,7	143,1	152,0	153,7	149,5	130,9	185,2	159,3	191,2
Селезенка	716,8	654,7	511,1	513,0	437,7	493,8	449,2	682,7	573,5	493,9
Правый лимфатический узел	895,4	780,1	606,4	676,0	530,4	635,1	880,3	843,5	968,1	578,3
Левый лимфатический узел	908,6	772,5	749,2	615,0	536,9	584,6	705,2	842,6	827,3	403,2

комплексным препаратом против анаэробных инфекций позволило констатировать определенную взаимосвязь между изученными факторами и антителогенезом. Особенно отчетливо выявлялась зависимость между суммарным количеством нуклеиновых кислот в иммунологически компетентных органах и тканях иммунизированных животных и наличием антитоксина.

Установленные закономерности позволяют сделать вывод о целесообразности учета при разработке методов вакцинации не только специфических, но и неспецифических факторов иммунитета.

### Динамика биохимических и иммунохимических свойств очищенного анатоксина *Cl. oedematiens* в процессе его изготовления

*И. И. Гольбец, Т. А. Казарова, Г. Л. Орлова,  
Т. П. Пресман, К. А. Гудзенко. Харьков*

В литературе последних лет много внимания уделяется вопросу получения высокоактивных токсинов *Cl. oedematiens* и соответствующих очищенных анатоксинов с высокой удельной активностью и иммуногенностью (В. Д. Артеменко с соавт., 1971; С. В. Бирюкова, 1969; А. А. Воробьев, 1964; В. Г. Кулак с соавт., 1970; М. А. Филимонова с соавт., 1969; Г. П. Черкас, 1958).

Вместе с тем выбор оптимальных вариантов отдельных этапов технологического процесса изготовления очищенного анаток-

сина эдематиненс, как и выбор оптимальных схем контроля на различных этапах, нельзя считать достаточно разработанным.

В настоящей работе представлены биохимические и иммунохимические характеристики материалов, полученных на разных этапах производственного процесса изготовления очищенного концентрированного сорбированного анатоксина эдематиненс, а также отдельные результаты апробации различных вариантов технологического процесса.

Были исследованы сырье, питательные среды и полученные в них токсины и нативные анатоксины, испытаны различные методы очистки нативных анатоксинов, изучены свойства полученных очищенных анатоксинов.

Контроль проводили следующими методами: азотистый состав сред и антигенов — микрометодом Кьельдаля—Маркгама; полипептидный состав — методом Торбана (1958); активность антигенов (DLM и ЕС) — титрацией на белых мышах (МРТУ-42 № 330—69); антигенный спектр — методом диффузионной преципитации с моновалентной сывороткой по Оухтерлони (1958); учет элюатов при гель-фильтрации — по экстинкции с реактивом Лоури—Фолина.

В первой серии опытов были изучены пептические гидролизаты казеина, поскольку они являлись основой при изготовлении питательных сред для культивирования *Cl. oedematiens*. Использовали казеин кислотный, по физическим и химическим показателям соответствовавший казеину техническому (в/с, ГОСТ 1211—41). Химические показатели казеина: кислотность 40—60 градусов Тернера; влажность 5,5—10,5%; зольность 1,8—2,5%; растворимость 0,22—0,26 мл; жирность 1,1—1,5%. Гидролиз проводили пепсином (МРТУ-42 № 297—69, активность 1200—1600 ед.) при pH 1,8—1,95 и температуре 38—45°. Пробы брали каждые 30—60 минут в 1-е сутки, а затем каждые 24 часа в течение 6 суток. Определения вели в цельных гидролизатах, а также в фугатах после осаждения 5 и 10% ТХУ. Определяли различные формы азота, белки, полипептиды, аминокислоты.

Установлено, что в стационарных условиях гидролиз начинается сразу же после добавления фермента и продолжается в течение 6 суток. Аминокислоты обнаруживаются в фугатах через 6 часов. Наиболее интенсивно протекает процесс в первые 2 суток. Динамика большинства показателей гидролиза в фугатах прослеживается четче, чем в цельных гидролизатах.

Представляется целесообразным рекомендовать проведение такого подробного контроля хода гидролиза при любых изменениях в технологическом процессе (переход от полупроизводственных масштабов к производственным, изменение качества сырья и пр.).

Для получения токсинов *Cl. oedematiens* были использованы два вида сред (№ 1 и № 2) на основе пепсинного гидролизата казеина и пепсин-панкреатическая среда, примененная С. В. Бирюковой (1969). Химическая характеристика сред представлена в табл. 1. Для токсинообразования был использован штамм *Cl. oedematiens* № 277. Маточные культуры выращивали на различных средах. В описанных условиях были получены токсины различной силы — от  $3 \cdot 10^3$  до  $15 \cdot 10^3$  *DLM/мл*.

Мы не могли отметить закономерной зависимости между каким-либо из испытанных химических показателей и токсичностью культурального фильтрата. Не установлено также и прямой взаимосвязи между концентрацией II полипептидной фракции и активностью токсина. В последующих опытах было проведено сопоставление химических характеристик питательных сред и полученных в них токсинов. Как видно из данных, представленных в табл. 2, в процессе токсинообразования происходило закономерное падение белкового и нарастание полипептидного азота. Увеличивалось содержание аминного азота. Одновременно изменялось соотношение пептидных фракций. В токсине, как и в среде, значительно преобладала III фракция. В двух других фракциях происходила следующая перегруппировка: если в среде II фракция больше, чем I, то в токсине I фракция больше, чем II.

Таким образом, создается впечатление, что в ходе токсинообразования идет ряд процессов, приводящих, с одной стороны, к уменьшению содержания белкового и нарастанию полипептидного азота, с другой, — к уменьшению концентрации II полипептидной фракции. В наших опытах мы не отмечали полного исчезновения последней, даже в тех случаях, когда был получен токсин активностью  $10 \cdot 10^3$  —  $15 \cdot 10^3$  *DLM/мл*.

Вместе с тем закономерное падение белкового азота и II полипептидной фракции при токсинообразовании свидетельствует о необходимости проведения постоянного контроля за этими показателями в средах, предназначенных для получения токсина *Cl. oedematiens*.

Проведено фракционирование токсинов через гель-сефадекс Г-75, Г-100 и Г-150 на колонках размером  $16 \times 600$  мм с боратными буферными растворами рН 7,5 и 8,2. Скорость элюции 15—20 *мл/час*. Во всех токсинах, независимо от их активности, обнаруживалось два пика: высокомолекулярный, элюируемый в объеме 50—60 *мл*, и низкомолекулярный, элюируемый в объеме 100—150 *мл* (рис. 1). Летальная активность обнаруживалась только в высокомолекулярной фракции.

Обезвреживание токсинов проводили переводом в анакультуру по методу, принятому в ХНИИМВС им. И. И. Мечникова. Ак-

Характеристика питательных сред

Таблица 1

Питательная среда	№ общ., шт. %	№ ост., шт. %	№ б., шт. %	№ ам., шт. %	№ подопл., шт. %	Перитон, %	Шистин, шт. %	Триптофан, шт. %	Коэф-ф-интегр. расщеп-ления	рН	Полипептидные фрак-ции по Торбану, %		
											I	II	III
Пепсин-панкреа-тин-казеи-новая	896,0	856,0	40,0	244,0	6,12	5,5	84,0	95,0	0,272	7,9	8,0	7,0	85,0
	541,0	623,0	16,0	163,0	360,0	3,9	75,0	76,0	0,302	7,95	15,8	0	84,2
	543,0	532,0	11,0	164,0	368,0	4,2	75,0	76,0	0,302	8,0	13,8	0	86,2
	616,0	618,0	0	215,0	403,0	0	85,0	91,0	0,349	7,9	12,8	4,2	83,0
	530,0	453,0	77,0	222,0	230,0	6,2	80,0	88,0	0,420	7,85	—	—	—
Пепсин-казеи-новая № 1	877,0	694,0	177,0	187,0	507,0	4,8	87,0	100,0	0,214	7,55	23,2	15,4	61,4
	583,0	529,0	25,0	173,0	356,0	4,8	80,0	82,0	0,296	7,5	10,7	6,0	83,3
	472,0	383,0	84,0	105,0	278,0	3,3	70,0	64,0	0,222	7,7	6,9	10,2	82,9
	551,0	409,0	142,0	140,0	269,0	4,3	67,0	60,0	0,251	8,3	11,2	18,4	70,4
	627,0	382,0	245,0	141,0	241,0	5,0	132,0	90,0	0,224	8,0	15,1	24,9	60,0
Пепсин-казеи-новая № 2	438,6	414,4	24,2	129,5	284,5	4,7	95,0	78,0	0,296	8,0	12,6	19,2	68,2
	648,6	506,8	141,8	161,7	345,1	5,0	72,0	92,0	0,25	8,3	14,0	13,0	73,0
	620,6	397,6	223,0	144,9	252,7	7,0	66,0	70,0	0,22	7,0	14,7	9,3	76,0
	521,5	386,4	135,1	137,9	248,5	6,25	70,0	72,0	0,3	6,85	2,6	10,4	87,0
	539,1	377,0	162,1	132,3	244,7	4,9	72,0	74,0	0,25	8,4	2,7	12,3	85,0
Пепсин-казеи-новая № 2	518,0	372,4	145,6	128,8	243,6	5,66	77,5	76,0	0,25	7,9	6,7	14,3	79,0
	599,7	419,8	179,9	149,1	270,7	6,25	75,0	88,0	0,26	7,9	3,0	11,5	85,5

Таблица 2

Характеристика пепсин-казеиновых бульонов и полученных в них токсинов

Серия	N <sub>общ.</sub> , мг%	N <sub>ост.</sub> , мг%	N <sub>б.</sub> , мг%	N <sub>ам.</sub> , мг%	N <sub>полнп.</sub> , мг%	рН	Полипептидные фракции по Торбану, %		
							I	II	III
5 С	459,6	397,6	62,0	130,2	267,1	7,75	0,85	4,95	94,2
5 Т	483,0	452,0	30,0	182,0	270,0	6,0	13,0	4,5	82,5
6 С	644,0	546,0	98,0	168,7	377,3	8,1	3,3	4,7	92,0
6 Т	640,2	653,0	—	246,4	406,6	6,7	12,6	1,4	86,0
7 С	648,6	506,8	141,8	161,7	345,1	8,3	14,0	13,0	73,0
7 Т	723,0	709,0	10,0	289,1	419,9	6,8	7,3	5,7	87,0
8 С	571,6	403,2	168,4	143,5	259,7	8,35	3,0	12,0	85,0
8 Т	567,0	508,0	59,0	199,4	308,6	6,65	8,5	3,5	88,0
10 С	521,5	386,4	135,1	137,9	248,5	6,75	2,6	10,4	87,0
10 Т	541,3	499,2	40,0	194,4	304,8	5,3	4,5	2,5	93,0
11 С	539,1	377,0	162,1	132,3	244,7	8,4	2,7	12,3	85,0
11 Т	539,0	542,0	—	210,0	332,0	6,65	18,0	2,0	80,0
12 С	518,0	372,4	145,6	128,8	243,6	7,9	6,7	14,3	79,0
12 Т	580,0	584,0	—	180,3	403,7	6,45	8,3	5,7	86,0
13 С	599,7	419,8	179,9	149,1	270,7	7,9	3,0	11,5	85,5
13 Т	565,0	565,0	—	198,0	367,0	6,2	9,5	5,6	84,5

Условные обозначения: С — среда, Т — токсин.

Активность полученных анатоксинов колебалась от 4 до 30 ЕС. Удельная активность на общий азот 0,9—4,6 ЕС/мг, на белковый азот 6,5—140 ЕС/мг. Следует отметить, что последний показатель, как правило, вообще не определяется. Между тем целесообразно учитывать именно этот критерий для сведения нескольких серий нативных анатоксинов при очистке и при подборе оптимального рН для изоосаждения.

При сопоставлении иммунограмм токсинов и соответствующих анатоксинов различий не выявлено (рис. 2). При гель-фильтрации в анатоксинах четко видны два пика, элюируемые в тех же объемах, что и в токсинах, хотя первый пик выражен отчетливее, нежели в токсинах (рис. 1). Показано, что только первый высокомолекулярный пик обладает антитоксинсвязывающими свойствами и содержит все антигенные компоненты, присущие нативному анатоксину.

В настоящее время широкое распространение получил способ очистки анатоксинов эдематиенс путем двухстадийного осаждения

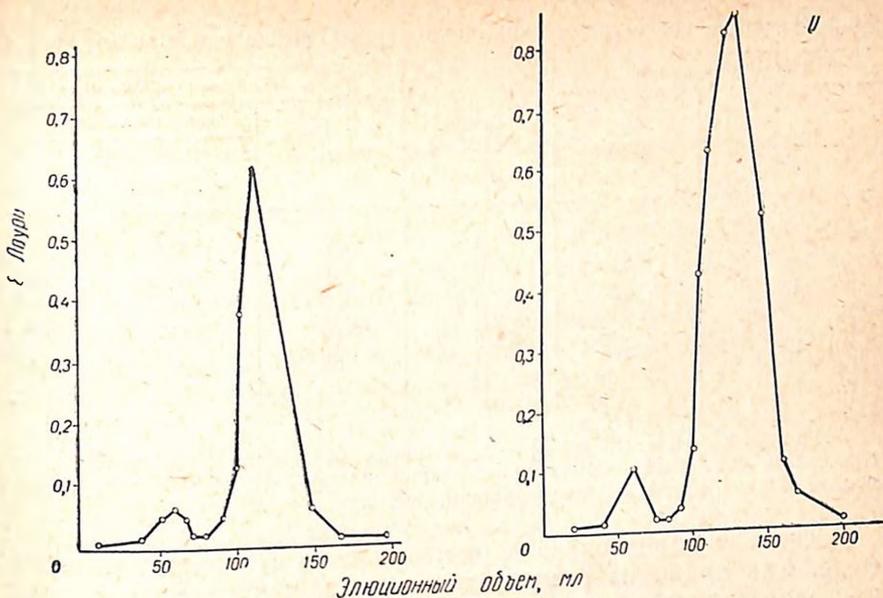


Рис. 1. Разделение на колонке с гелем сефадекса: I — нативного токсина; II — нативного анатоксина.

антигена соляной кислотой в присутствии гексаметафосфата натрия. Этот метод нашел отражение и в официальной документации (МРТУ-42 № 330—69). Следует отметить, что еще в 1964 г. А. А. Воробьев и соавторы, применив в лабораторных условиях одноэтапное осаждение токсина *Cl. oedematiens*, получили хорошие результаты, хотя, как отметили авторы, метод не оправдал себя в производственном процессе.

Нами были проведены сравнительные опыты по очистке анатоксинов эдематиеис в двух вариантах: 1) двухэтапное осаждение в соответствии с существующей документацией; 2) одноэтапное осаждение при pH 3,6—3,8 с промыванием осадка подкисленной до pH 3,2—3,5 дистиллированной водой.

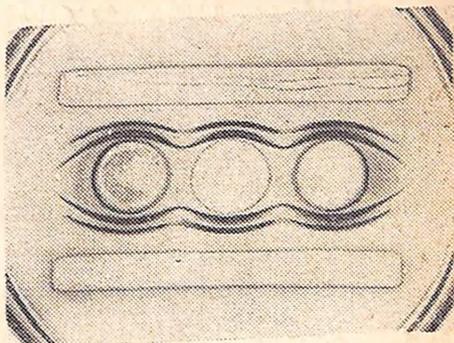


Рис. 2. Сравнительная иммунограмма токсина и анатоксина эдематиеис. В центре — токсин.

Таблица 3

Характеристика анатоксинов, очищенных двухэтапным и одноэтапным способами

Нативный анатоксин		Способ осаждения	Очищенный анатоксин		
Серия	ЕС/мл		Выход, %	Удельная активность, ЕС/мг	
				N <sub>общ.</sub>	N <sub>б.</sub>
5	25	I	50	220	280
		II	70	350	400
15	5	I	60	270	290
		II	75	300	310
23	8	I	55	348	360
		II	75	400	400

Примечание. Способ I — двухэтапное осаждение в соответствии с регламентом, способ II — одноэтапное осаждение при pH 3,6—3,8 с промыванием осадка подкисленной дистиллированной водой.

Осадок в обоих случаях растворялся в сукцинат-боратном буфере. Как видно из результатов опытов, приведенных в табл. 3, при одноэтапном осаждении анатоксины характеризовались удель-

Таблица 4

Характеристика анатоксинов эдематиенс, очищенных методом одноэтапного осаждения

Характеристика нативных анатоксинов					Характеристика очищенных концентрированных анатоксинов								
ЕС/мл	N <sub>общ.</sub> , мг/л	N <sub>б.</sub> , мг%	Удельная активность, ЕС/мг		Концентрация	ЕС/мл	Выход, %	N <sub>общ.</sub> , мг%	N <sub>б.</sub> , мг%	Удельная активность, ЕС/мг		Очистка по N <sub>общ.</sub> , %	Очистка по N <sub>б.</sub> , %
			N <sub>общ.</sub>	N <sub>б.</sub>						N <sub>общ.</sub>	N <sub>б.</sub>		
18	359,0	—	5,0	—	20	180	50,0	63,0	53,8	286	334	99,1	—
18	359,0	—	5,0	—	20	190	55,0	55,3	48,8	346	388	99,2	—
14	506,3	30,3	2,7	46,7	20	180	64,0	49,0	44,0	367	410	99,5	92,6
5	518,0	74,8	0,96	6,57	20	80	80,0	46,9	42,3	171	191	99,5	97,2
10	434,0	42,0	2,32	23,8	100	550	55,0	30,0	24,9	180	220	99,3	94,1
16	387,0	33,0	4,1	49,0	20	210	65,0	54,3	54,3	400	400	99,3	91,9
25	560,0	35,0	4,5	72,0	20	300	60,0	84,0	80,0	360	375	99,2	88,6
4	324,6	11,7	1,2	33,0	50	140	70,0	45,6	Z	Z	Z	99,7	Z
5	427,0	11,8	1,2	42,5	50	180	72,0	42,0	Z	Z	Z	99,8	Z
7	434,0	46,0	1,62	15,2	40	200	70,0	72,0	Z	Z	Z	99,6	Z
18	387,0	33,0	4,65	55,0	20	190	53,0	55,3	48,8	343,0	368	99,3	92,6

Примечание. — не обнаружено, Z — не определялся.

ной активностью равной или большей, чем при двухэтапной очистке. Выход при одноэтапной очистке, естественно, лучше, чем при двухэтапной, объем работы — меньше. Поэтому во всех последующих опытах очистка велась одноэтапно. Очищенные анатоксины эдематиенс при выходе активного вещества 50—80% имели нагрузку 190—460 ЕС/мг белкового азота, даже в тех случаях, когда активность нативных анатоксинов составляла 4—6 ЕС/мл (табл. 4). Метод полностью оправдал себя в производственных условиях, где было очищено 36 серий нативного анатоксина. При этом получено 200 000 доз очищенного сорбированного анатоксина, обладающего хорошими иммуногенными свойствами.

Интересно остановиться на характеристике очищенных анатоксинов, полученных при гель-фильтрации на сефадексе. Условия разделения очищенных препаратов отличались от описанных ранее значительным снижением скорости элюции — до 5—10 мл/час. Были изучены анатоксины с удельной активностью 200—400 ЕС/мг белкового азота. Как и следовало ожидать, по мере очистки возрастал высокомолекулярный пик, элюируемый в объеме 40—60 мл, и падал низкомолекулярный — в объеме 100—130 мл. Однако, как видно из рис. 3, последний сохранялся, хотя и в очень незначительных количествах, в препаратах с достаточно высокой удельной активностью. Пересаживание очищенного анатоксина в наших опытах не приводило к удалению низкомолекулярной фракции, в отличие от данных В. Г. Кулака с соавт. (1970). Более того, в большинстве случаев фракционный состав очищенных анатоксинов носил «трехступенчатый» характер: I высокомолекулярный пик, элюируемый в объеме 40—60 мл, Ia промежуточный пик («ступенька») в объеме 70—80 мл, II низкомолекулярный пик — 110—130 мл.

Во всех трех элюатах определяли антитоксинсвязывающую активность и антигенный спектр, для чего предварительно концентрировали их в 4—6 раз. В реакции иммунопреципитации установлено, что элюаты I и Ia содержат довольно сложный антигенный спектр, элюат II преципитатов не образовывал (рис. 4). Выраженной антитоксинсвязывающей активностью характеризовался элюат I.

Таким образом, биологически активные белки, присущие анатоксину эдематиенс, при фракционировании его на сефадексе элюируются в объеме 40—80 мл и, следовательно, характеризуются молекулярным весом более 100 000. Роль отдельных антигенных компонентов, входящих в эту фракцию, нуждается в специальном изучении. Низкомолекулярная фракция, по-видимому, может быть удалена без ущерба для активности анатоксина.

Таким образом, опыты по очистке анатоксинов *Cl. oedematiens* и изучение их характеристики показали, что одноэтапный метод

очистки позволяет получать антигены, по всем принятым критериям соответствующие МРТУ-42 № 330—69. Одновременно иммунохимический анализ полученных очищенных препаратов показал, что они представляют собой довольно сложную систему, которая нуждается в дальнейшем фракционировании и изучении.

Следует отметить, что в условиях производства всегда возможны случаи, когда очищенный анатоксин не соответствует по удель-

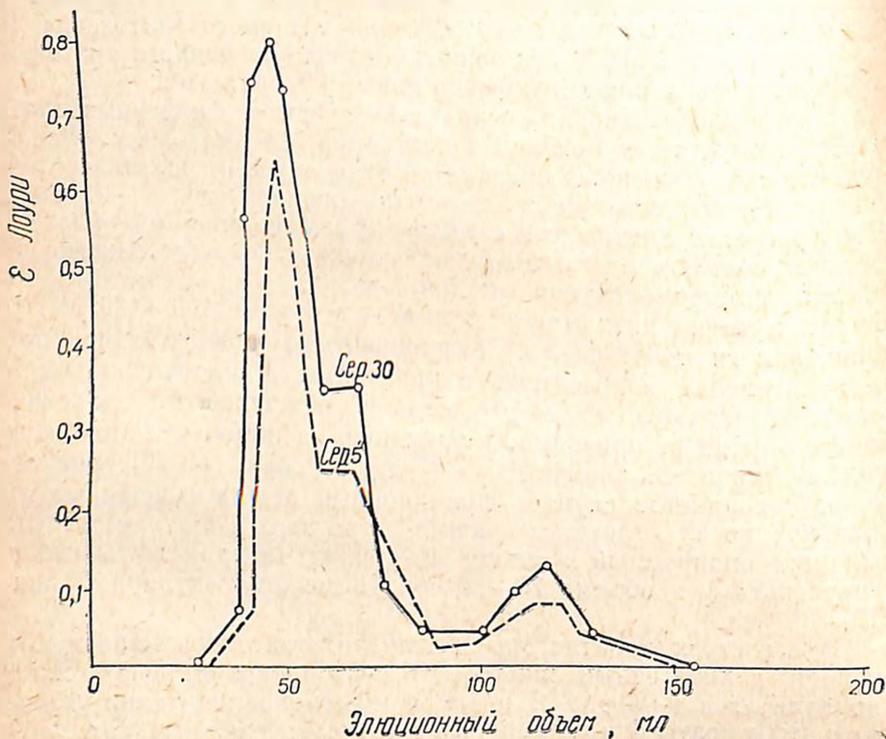


Рис. 3. Разделение на геле сефадекса очищенных анатоксинов с активностью 200—400 ЕС/мг белкового азота.

ной активности лимитным требованиям из-за низкого титра нативного анатоксина или каких-либо отступлений, допущенных в режиме очистки и пр. Учитывая это, а также целесообразность удаления низкомолекулярного балласта, остатки которого, как было показано, сохраняются в препаратах с высокой удельной активностью, мы испытали различные варианты второго этапа очистки. Для этого было проведено: 1) пересаживание очищенного анатоксина ацетоном; 2) фракционирование очищенных анатоксинов

на ДЕАЕ-целлюлозе; 3) гель-фильтрация через сефадекс Г-75, Г-100, Г-150 на препаративных колонках.

Во всех трех случаях показатели очищенного анатоксина не были существенно улучшены, так как при первом способе увеличение удельной активности было незначительным; при втором — повышение удельной активности сочеталось с существенным снижением выхода; в третьем случае не был найден рациональный технологический режим.

Вопрос этот требует дальнейшей экспериментальной разработки.

Таким образом, проведенные исследования позволили получить в процессе культивирования *Cl. oedematiens* в средах пепсинного гидролиза казеина токсины активностью  $3 \cdot 10^3$ — $15 \cdot 10^3$  ДЛМ/мл. В процессе токсинообразования отмечена перегруппировка азотистых соединений. При гель-фильтрации летальный фактор токсина обнаруживается в высокомолекулярной фракции. Анатоксины, полученные обезвреживанием культуры *Cl. oedematiens*, имели активность 4—25 ЕС/мл. При сопоставлении токсинов и анатоксинов по фракционному и антигенному составу существенных различий не обнаружено.

Опыты показали эффективность очистки анатоксинов одноэтапным осаждением соляной кислотой с гексаметафосфатом натрия при рН 3,6—3,8. Очищенные этим методом производственные серии анатоксинов составили 200 000 доз сорбированного препарата с иммуногенностью, соответствующей требованиям МРТУ-42 № 330—69.

Установлено, что очищенные анатоксины имеют сложный и неоднородный состав. Активные белки элюируются при гель-фильтрации в высокомолекулярной фракции (м. в. > 100 000). В состав этой фракции входят 3—6 антигенных компонентов.

С целью более полной очистки анатоксинов испытаны различные методы: осаждение ацетоном, хроматография на ДЕАЕ-целлюлозе, препаративная гель-фильтрация. Работа в этом направлении будет продолжена.

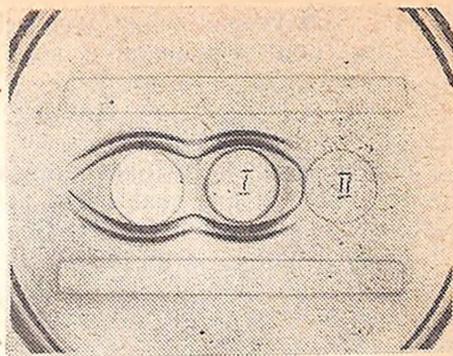


Рис. 4. Сравнительная иммунограмма очищенного анатоксина с элюатами I и II.

## Изучение лейкотоксического эффекта при интоксикации, вызванной токсином *Cl. oedematiens*

А. Л. Головатюк. Одесса

Одним из свойств токсинов возбудителей газовой инфекции является способность оказывать разрушающее действие на клеточные элементы крови (Н. Н. Блохин, 1943; А. А. Алфеева, 1945; А. В. Мельников, 1945; А. С. Видманова, 1946; М. В. Глинкина, О. А. Левин, 1946; А. Н. Беркутов, 1951; С. Е. Ольштейн, 1952; М. П. Ермакова, С. А. Шамраева, Е. П. Земляницкая, Е. В. Владова, 1971).

Изменение функционального состояния лейкоцитов под влиянием токсина *Cl. oedematiens*, выражающееся в угнетении их фагоцитарной активности, наблюдали С. М. Минервин, С. П. Жак (1955), И. А. Сытник (1960), И. Я. Аносов с соавт. (1970). При этом моновалентная специфическая анитоксическая сыворотка оказывает почти полное нейтрализующее действие в отношении угнетения фагоцитоза в опытах *in vitro* (И. А. Сытник, 1960). При газовой инфекции наблюдается изменение количественного состава лейкоцитов (С. В. Ольштейн, 1952; И. Я. Аносов с соавт., 1971).

В литературе есть указания на взаимосвязь количества лейкоцитов в периферической крови с показателями фагоцитоза. По Хенксу, при увеличении числа лейкоцитов в рабочей смеси фагоцитарное число и процент фагоцитирующих клеток снижаются и, напротив, если число лейкоцитов в единице рабочей смеси уменьшается, то при постоянном количестве микробных клеток показатели фагоцитарной активности повышаются.

В. И. Огреба (1969) приходит к заключению, что различное число лейкоцитов в рабочих пробах при постоянном количестве добавляемых бактерий определяет уровень фагоцитарной активности лейкоцитов только в одинаковых условиях среды (опсонины, нормальные антитела и другие факторы, влияющие на процесс фагоцитоза). При определении фагоцитарной активности лейкоцитов у разных индивидуумов с неодинаковым содержанием лейкоцитов в крови эта закономерность не прослеживается, что автор объясняет разным опсонизирующим действием сывороточных белков.

Целью настоящего исследования явилось изучение уровня фагоцитарной активности лейкоцитов периферической крови в зависимости от числа лейкоцитов в период интоксикации, обусловленной различными дозами токсина *Cl. oedematiens*. Изучалось также влияние гомологичной анитоксической сыворотки на фагоцитарную способность лейкоцитов.

Работа выполнена на морских свинках весом 300—350 г. В исследованиях использован сухой токсин *Cl. oedematiens* типа А серии 231, полученный из Государственного контрольного института имени Л. А. Тарасевича. Минимальная смертельная доза, определенная в предварительных опытах, соответствовала 2,3 мг. Перед введением токсин растворяли в физиологическом растворе NaCl.

Животным 1-й группы в икроножную мышцу вводили токсин в дозе 2 Dlm, животным 2-й — по 1 Dlm, 3-й — по 0,5 Dlm.

До инъекции и в разные сроки после нее (через 3 и 6 часов, а если свинки оставались живыми, то и через 1, 2, 3, 4 и 5 суток) кровь подвергали обычному клиническому анализу. Лейкоцитарную формулу изучали в препаратах-мазках при подсчете 200 клеток с последующим нахождением средней величины.

Реакция фагоцитоза ставилась по следующей методике: в видалевскую пробирку пипеткой Панченкова вносили один объем 2% раствора лимоннокислого натрия, два объема крови, полученной из краевой вены уха морской свинки, и один объем (2 млрд. по оптическому стандарту) микробной взвеси точной агаровой культуры стафилококка (штамм № 209). После тщательного смешивания ингредиентов пробирку помещали в термостат при 37° на 30 минут. Из смеси готовили мазки, фиксировали в течение 5 минут в метиловом спирте и красили по Романовскому—Гимзе. В каждой мазке подсчитывали 100 псевдоэозинофилов и определяли следующие показатели: 1) индекс Райта — число микробов на один лейкоцит; 2) индекс Гамбургера — число лейкоцитов, захвативших микробные клетки, от общего числа сосчитанных лейкоцитов; 3) число фагоцитов в состоянии аттракции из числа фагоцитирующих псевдоэозинофилов. Определив число лейкоцитов в 1 мм<sup>3</sup> крови и изучив лейкоцитарную формулу, вычисляли количество псевдоэозинофилов в 1 мм<sup>3</sup>. Затем вычисляли на 1 мм<sup>3</sup> крови: 1) количество фагоцитированных кокков; 2) число фагоцитирующих нейтрофилов; 3) число нейтрофилов в состоянии аттракции.

При изучении показателей фагоцитоза в период интоксикации в одну из пробирок к цитратной крови перед внесением микробной взвеси добавляли один объем сыворотки антиэдематинес (178 ME в 1 мл), а другую — один объем физиологического раствора NaCl. Ингредиенты помещали в термостат при 37° на 30 минут.

Исследования показали, что при введении 0,5 смертельной дозы токсина функциональное состояние лейкоцитов крови значительно изменяется. Через 3 часа после введения токсина индексы Райта и Гамбургера резко уменьшаются (соответственно  $0,248 \pm 0,026$  и  $16,17\% \pm 1,932$  при исходных  $0,865 \pm 0,006$  и  $44,833\% \pm 1,771$ ). Процент фагоцитов в состоянии аттракции снижается значительно ( $P > 0,05$ ). Число лейкоцитов в 1 мм<sup>3</sup> крови остается на прежнем уровне, однако возрастает число псевдоэозинофилов ( $7975,3 \pm 1083,57$  против  $3859,6 \pm 222,4$ ). В связи с этим абсолютное число фагоцитирующих псевдоэозинофилов почти не изменяется. При этом наблюдается увеличение (на 1 мм<sup>3</sup> крови) числа фагоцитов в состоянии аттракции ( $P < 0,05$ ). Известно, что фагоцитоз останавливается в стадии аттракции при отравлении лей-

коцитов. Эта стадия достигается и мертвыми лейкоцитами (И. Г. Савченко и др., 1909). Несмотря на прежний уровень фагоцитирующих псевдоэозинофилов, абсолютное число фагоцитированных кокков уменьшается.

Под влиянием специфической антитоксической сыворотки индекс Райта увеличивается ( $P < 0,05$ ). Можно было бы предположить, что под влиянием антитоксической сыворотки возрастает фагоцитарная активность лейкоцитов, однако анализ абсолютных чисел фагоцитированных кокков выявляет недостоверность данного увеличения.

Еще в большей степени снижается фагоцитарная активность лейкоцитов в крови через 6 часов (индекс Райта становится равным  $0,132 \pm 0,006$ ; индекс Габургера —  $9,17\% \pm 0,481$ ). Это снижение происходит на фоне реактивного увеличения числа псевдоэозинофилов ( $115,93 \pm 992,51$ ). Антитоксическая сыворотка не оказывала в данном случае ожидаемого действия. Через сутки после введения токсина индекс Райта снизился до  $0,055 \pm 0,004$ , индекс Гамбургера — до  $4\% \pm 0,322$ . Специфическая антитоксическая сыворотка оставалась неэффективной.

С 2-х суток изучаемые показатели постепенно возрастают, достигая исходного уровня на 5-е сутки. В то же время специфическая антитоксическая сыворотка приводит к увеличению фагоцитарной активности.

После введения одной смертельной дозы токсина отмечается более выраженное снижение фагоцитарной активности псевдоэозинофилов. Через 3 часа индекс Райта становится равным  $0,133\% \pm 0,006$  против  $0,783 \pm 0,029$ ; индекс Гамбургера —  $7,67\% \pm 0,322$  против  $44,17\% \pm 1,449$ , а через 6 часов — соответственно  $0,08 \pm 0,006$  и  $5,83\% \pm 0,481$ . Число псевдоэозинофилов в период интоксикации, вызванной 1 Dlm, заметно возрастает, достигая  $12174,0 \pm 1419,88$  через 6 часов после введения токсина при исходном  $4303,7 \pm 995,65$ . Несмотря на увеличение числа фагоцитов в 1 мм<sup>3</sup> крови абсолютное число фагоцитирующих клеток и фагоцитированных кокков в период развившейся интоксикации было ниже исходного уровня.

При добавлении сыворотки антиэдематическ к пробам крови, взятым через 3 и 6 часов после введения токсинов, отмечается незначительное увеличение индексов Райта и Гамбургера. Увеличение числа фагоцитированных кокков (на 1 мм<sup>3</sup> крови) под влиянием сыворотки статистически недостоверно.

В период интоксикации, обусловленной двумя смертельными дозами токсина, уже в первые часы наблюдается выраженный лейкоцитоз (через 3 часа —  $18175 \pm 1207,7$ ; через 6 часов —  $27975 \pm 1706,9$  при исходном  $12233,3 \pm 892,31$ ), обусловленный увеличе-

нием числа псевдоэозинофилов в  $1 \text{ мм}^3$  крови. Индекс Райта через 3 часа после введения токсина снижается до  $0,201 \pm 0,012$ , а через 6 часов — до  $0,137 \pm 0,017$  при исходном  $0,833 \pm 0,017$ . Индекс Гамбургера соответственно равен  $11,5 \pm 0,966$  и  $8,61\% \pm 0,966$  при исходном  $47\% \pm 1,288$ . Показатели фагоцитарной активности остаются низкими и при добавлении к пробам крови специфической антитоксической сыворотки. В связи с увеличением числа псевдоэозинофилов в  $1 \text{ мм}^3$  крови абсолютное число фагоцитирующих клеток и фагоцитированных кокков не снизилось ( $P > 0,05$ ). Число фагоцитов в состоянии аттракции также осталось на прежнем уровне.

Специфическая антитоксическая сыворотка не приводила к увеличению изучаемых показателей.

Таким образом, проведенные исследования показали, что токсин *Cl. oedematiens* в опытах на морских свинках оказывает лейкотоксическое действие, которое проявляется в снижении фагоцитарной активности лейкоцитов и уменьшении процента фагоцитирующих клеток.

Угнетение функционального состояния лейкоцитов сохраняется в течение нескольких дней после введения токсинов. Лейкотоксическое действие токсинов не всегда сопровождается уменьшением фагоцитарной активности крови вследствие развития выраженного лейкоцитоза.

Под влиянием добавленной *in vitro* специфической антитоксической сыворотки фагоцитарная активность лейкоцитов в отдельных случаях восстанавливалась, что становилось закономерным в период выздоровления животных.

### Изучение лейкотоксина *Cl. oedematiens* типа А при гель-фильтрации на сефадексе Г-100

А. Л. Головатюк, П. З. Протченко. Одесса

Токсин *Cl. oedematiens* обладает сложной структурой. В составе нативного токсина обнаружены летальный, некротический, гемолитический факторы, а также ферменты агрессии: лецитиназа, гиалуронидаза, фибринолизин, желатиназа (Ю. Н. Макарова-Тарасевич, 1934; Scott et al., 1934; Е. В. Глотова, 1935; Oakley et al., 1947; Н. Я. Денисова, М. Д. Петренко, 1955, и др.). По мнению авторов, каждый из компонентов токсина обособлен, за исключением некротического, который связан с летальным компонентом.

С. М. Минервин, К. И. Червякова и С. П. Жак (1955) обнаружили у токсина *Cl. oedematiens* лейкотоксические свойства, выра-

жающиеся в резком подавлении фагоцитарной активности лейкоцитов. По данным И. А. Сытника (1957), этот токсин сильнее токсинов других возбудителей газовой инфекции угнетает фагоцитарную активность микро- и макрофагов и обладает выраженной способностью вызывать разрушение и распад клеток. Максимальное количество лейкотоксина обнаруживается в 4-суточных культурах *Cl. oedematiens*, обладающих и большей летальной активностью, в то время как гемотоксин и лецитиназа накапливаются раньше (И. А. Сытник, 1960). На этом основании автор делает вывод о разной природе лейкотоксина и гемотоксина. Различие природы летальной и гемолитической активности было подтверждено В. Г. Кулак с соавт. (1970) при фракционировании нативного токсина *Cl. oedematiens* типа А на геле сефадекса Г-100. Летальный и некротический факторы были связаны с фракцией белков молекулярного веса свыше 100 000, гемолитическая и лецитиназная активность — с фракцией белков молекулярного веса около 35 000, амилазная активность — с белками молекулярного веса менее 12 000.

Цитотоксическое действие токсина *Cl. oedematiens* обнаружено также в культурах ткани (Penso, Vicari, 1959; Р. А. Салтыков с соавт., 1961; Е. М. Земсков, 1963; С. А. Шамраева, 1965; М. П. Ермакова с соавт., 1971).

Представляло интерес изучить природу лейкотоксической активности токсина *Cl. oedematiens*.

Опыты были проведены с препаратом сухого токсина *Cl. oedematiens* типа А, серии 231, полученным из Государственного контрольного института имени Л. А. Тарасевича. Навеску токсина растворяли в 0,01 М фосфатном буферном растворе рН 7,0, фильтровали через бумажный фильтр. В 1 мл раствора содержалось 10 мг белка. Концентрацию белка определяли по Лоури. Колонку 23,5×475 мм заполняли сефадексом Г-100 в 0,01 М фосфатном буферном растворе рН 7,0. Наносили 15 мл раствора токсина (150 мг белка), скорость тока жидкости устанавливали 15—20 мл/час. Опыты проводили при 4°. Фракции отбирали по 5 мл и анализировали на содержание белка по Лоури. Фракции, соответствующие пикам белка, и промежуточные между пиками с минимальным содержанием белка объединяли, концентрацию белка в них определяли по Лоури и изучали их биологическую активность суммарно.

Летальную активность определяли путем введения различных доз препаратов белым мышам весом 25—30 г внутрибрюшинно (каждая доза — 4 мышам). LD<sub>50</sub> рассчитывали по Керберу (И. П. Ашмарин, А. А. Воробьев, 1962). Летальную активность выражали числом LD<sub>50</sub>/мг белка. Некротическую активность определяли путем внутрикожного введения морским свинкам по 0,2 мл различных разведений препаратов.

Лецитиназная активность (лецитовителлиновая проба) и гемолитическая (в отношении эритроцитов лошади с применением фосфатно-хлоридного буфера 0,016 М солянокислого цистеина с рН

6,8, а также в отношении эритроцитов кролика) исходного токсина была очень низкой, поэтому в дальнейших опытах гемолизин и лецитиназу не определяли.

Наличие лейкотоксина определяли путем реакции фагоцитоза и методом Svejcer, Vančurik (1959).

Реакцию фагоцитоза ставили по следующей методике: в ряд агглютинационных пробирок вносили по одному объему (25 делений пипетки Панченкова) разведенный токсин или буферного раствора (контроль), три объема цитратной крови человека и помещали на 30 минут в термостат при 37°. Затем в каждую пробирку добавляли по одному объему взвеси суточной агаровой культуры стафилококка (штамм № 209) и после выдерживания в течение 30 минут при 37° готовили мазки для подсчета фагоцитарного показателя в 100 нейтрофилах.

Для определения лейкотоксина по Svejcer, Vančurik в ряд агглютинационных пробирок вносили по два объема (50 делений пипетки Панченкова) раствора Хенкса, по одному объему крови кролика, дважды отмытой от плазмы в растворе цитрата натрия путем центрифугирования (3000 об/мин), и по одному объему разведенный токсин. После выдерживания в течение 90 минут при 37° готовили мазки, подсчитывали 100 лейкоцитов, вычисляя процент гранулоцитов и лимфоцитов.

Доза токсина, вызывающая снижение числа гранулоцитов на 50%, принималась за лейкотоксическую единицу (ЛЕ). Для ее расчета строили график зависимости кратности снижения числа нейтрофилов от логарифма дозы и путем интерполяции находили lg ЛЕ. Лейкотоксическую активность выражали числом ЛЕ/мг белка.

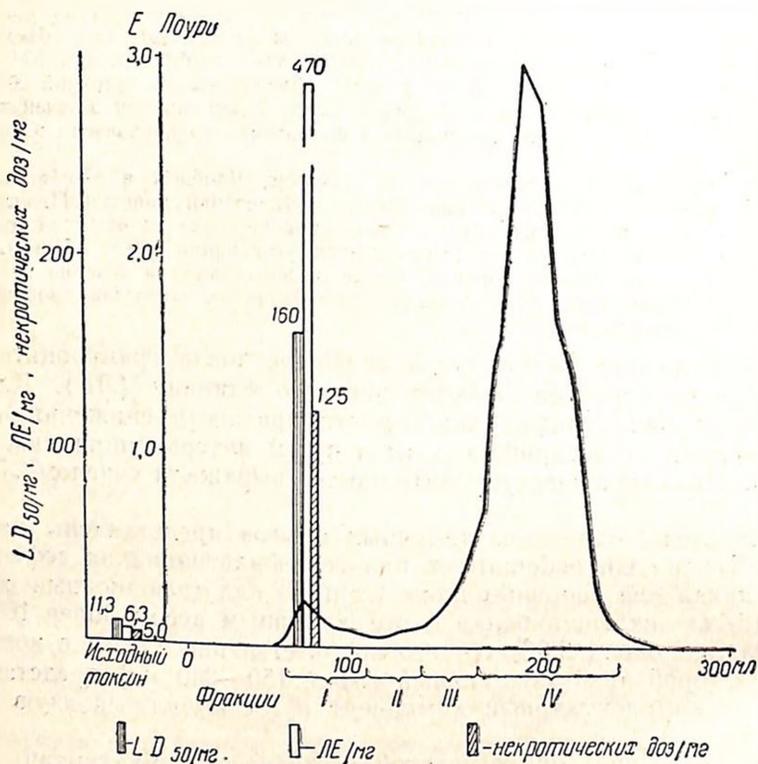
Результаты одного из типичных опытов представлены на рисунке. Токсин *C. oedematiens* при гель-фильтрации на сефадексе Г-100 давал два основных пика. Один из них (элюиционный объем 60—115 мл) включал белки с молекулярным весом более 100 000 и составлял около 3,3% общего количества внесенного в колонку белка. Второй пик (элюиционный объем 150—240 мл) представлял собой низкомолекулярный компонент и составлял основную массу белка.

Для изучения биологической активности объединяли пробирки, соответствующие 60—115 мл элюиционного объема (I фракция, 85 мкг белка на 1 мл), 120—145 мл (II фракция, 58,3 мкг белка на 1 мл). III фракцию составили пробирки, соответствующие 150—180 мл (290 мкг/мл) и IV — пробирки, соответствующие 185—240 мл (2050 мкг/мл).

Летальная активность обнаруживалась только в I фракции. LD<sub>50</sub> составила 6,24 мкг, что соответствовало 160 LD<sub>50</sub>/мг. Другие фракции летальной активностью не обладали. LD<sub>50</sub> исходного токсина составила 88,41 мкг — 11,3 LD<sub>50</sub>/мг. Таким образом, летальная активность I фракции более чем в 14 раз превышала активность исходного препарата, однако выход летальной активности

составил всего 43,8%. Это может быть связано либо с денатурацией препарата во время гель-фильтрации, либо с наличием в других фракциях летальной активности, которая в результате разведения не обнаруживалась.

Некротическая активность также была обнаружена только в I фракции, причем одинаково выраженную некротическую реак-



Разделение лейкотоксина *Cl. oedematiens* типа А на сефадексе Г-100.

цию вызывали 200 мкг исходного токсина и 8 мкг I фракции, т. е. I фракция была в 25 раз активнее. Другие фракции некротической реакции не давали.

Полученные результаты подтверждают данные В. Г. Кулак с соавт. (1970) о связи летальных и некротических свойств с высокомолекулярной фракцией токсина *Cl. oedematiens* типа А.

По реакции Svejcer, Vančurik ЛЕ для I фракции составила 2,13 мкг, т. е. 470 ЛЕ/мг. Для исходного токсина ЛЕ равнялась

158,6 мкг — 6,3 ЛЕ/мг. II—IV фракции лейкотоксической активностью не обладали.

Подавление фагоцитарной активности лейкоцитов было обнаружено только при добавлении I фракции. Так, доза 85 мкг/мл снижала фагоцитарный показатель в 3,3 раза; 8,5 мкг/мл — в 2,6 раза; 0,85 мкг/мл — в 2,1 раза и 0,085 мкг/мл не подавляла фагоцитоза. II фракция (58 мкг/мл), III (290 мкг/мл) и IV (2050 мкг/мл) фагоцитарную активность лейкоцитов не снижали. Исходный токсин обладал менее выраженным действием на фагоцитоз: доза 1000 мкг/мл вызывала снижение фагоцитарного показателя в 2,23 раза, 100 мкг/мл — в 1,5 раза, 10 мкг/мл — в 1,3 раза, доза 1 мкг/мл не изменяла фагоцитарного показателя. Возможно, относительно небольшая разница в степени подавления фагоцитарной активности под действием уменьшенных в 10 и 100 раз доз токсинов обусловлена неодинаковой чувствительностью нейтрофилов к токсину, в результате чего более чувствительные клетки под действием больших доз разрушались, а меньших — снижали фагоцитарную активность. Это предположение требует дальнейшего изучения.

Полученные результаты свидетельствуют о связи лейкотоксической, летальной и некротической активности сухого токсина *С1. oedematiens* типа А с высокомолекулярным компонентом.

Представляет интерес дальнейшее разделение высокомолекулярной фракции с целью изучения вопроса о том, является ли лейкотоксический компонент самостоятельным или связан с действием летального и некротического компонентов. Примененный метод гель-фильтрации на сефадексе Г-100 не позволил произвести разделения высокомолекулярных компонентов, так как при постановке двойной диффузионной преципитации в геле по Ouchterlony (Л. А. Зильбер, Г. И. Абелев, 1962) I фракция образовывала с поливалентной противогангренозной сывороткой пять линий преципитации, причем эти линии давали реакцию идентичности с такими же линиями исходного токсина. II фракция образовывала лишь одну слабо выраженную линию преципитации, а III и IV линий преципитации не давали. Следовательно, при использовании более совершенных методов (ионообменной хроматографии) высокомолекулярная фракция может быть разделена на ряд компонентов, что позволит решить вопрос о природе лейкотоксина.

На основании проведенных исследований можно сделать вывод о связи лейкотоксической, летальной и некротической активности токсина *С1. oedematiens* типа А с его высокомолекулярной фракцией.

## Значение некоторых функциональных групп аллергена *Cl. perfringens* типа А в проявлении биологической активности

З. Г. Старобинец. Харьков

Бактериальные аллергены широко применяются для диагностики различных аллергических состояний. Получение достаточно очищенных препаратов позволило расширить исследования по выяснению природы активного начала аллергенов. Одним из направлений таких исследований является изучение роли функциональных групп в проявлении биологической активности аллергенных препаратов. Этому вопросу посвящены работы Д. А. Цуверкалова (1951), В. А. Мусийко (1959), И. В. Зарецкой, Г. А. Горчаковой (1963), Г. А. Максимовой, В. Ф. Руновой (1969, 1971), Т. М. Тараненко и др. (1971). Авторы применяли дезаминирование, ацетилирование, йодирование и формализирование аллергенов, приготовленных из различных микроорганизмов. Оказалось, что специфическая активность дизентерина, пестина, бруцеллина, сибиреязвенного и туляреминого аллергенов связана со свободными  $\alpha$ -аминогруппами, а аллергическая активность туберкулина обусловлена наличием в его составе гуанидиновых группировок (В. И. Дегтяренко, 1965; В. Ф. Рунова, 1971).

Целью настоящей работы явилось изучение роли некоторых функциональных групп аллергена *Cl. perfringens* типа А при воспроизведении кожных аллергических реакций.

Аллерген *Cl. perfringens* типа А получен методом щелочного экстрагирования 1% КОН сухих микробных тел с последующим осаждением активной фракции 50% уксусной кислотой, диализом и лиофильным высушиванием (В. Ф. Рунова, В. Ю. Гавриленкова, 1970). Этот метод приготовления аллергенных препаратов позволяет выделять высокоактивные белковые фракции с минимальным содержанием полисахаридов и нуклеиновых кислот.

Нами было получено 12 серий очищенного аллергена *Cl. perfringens* типа А следующего химического состава: общий азот —  $11,00 \pm 0,84\%$ , белковые вещества (по Лоури) —  $70 \pm 6\%$ , редуцирующие вещества —  $0,41 \pm 0,02\%$ , нуклеиновые кислоты —  $0,4 \pm 0,02\%$ .

Для выявления роли функциональных группировок в биологической активности аллергена *Cl. perfringens* типа А мы подвергли две серии препарата с наиболее высоким содержанием общего азота (14,0—14,5%) дезаминированию, формализированию, ацетилированию и йодированию. При использовании первых трех методов происходит в основном изменение свободных аминных и

гидроксильных групп белка, а йодирование приводит к процессам замещения атомов водорода на йод в циклических аминокислотах тирозине и гистидине.

Деаминирование проводили свежеприготовленным раствором нитрита натрия в присутствии уксусной кислоты в течение 6 часов. О степени деаминирования судили по изменению общего азота, при этом его количество уменьшилось в 3,5 раза и соответствовало 4,0—4,3%. При формализировании аллерген подвергали обработке 1% формальдегидом в течение 24 часов при температуре 37°. Ацетилирование производили уксусным ангидридом в смеси с концентрированной серной кислотой в течение 20 часов при температуре 4° с последующим осаждением белковых веществ трихлоруксусной кислотой. Йодирование препарата осуществляли при pH 8,2 с помощью йодистого калия и 0,005 N водного раствора йода в течение суток при 37°. Все аллергены после указанной обработки и анализа были лиофильно высушены.

Активность исходных и модифицированных препаратов определяли путем воспроизведения аллергических реакций замедленного типа на 28 белокожих морских свинок весом 300—350 г. С этой целью животных подкожно сенсibilизировали 60 млрд. формализированных микробных тел *Cl. perfringens* типа А. Разрешающую дозу аллергена вводили внутрикочно через 21 день после сенсibilизации в объеме 0,2 мл. Все животные получали по 250 у каждого из препаратов, подвергнутых химической обработке, и, в качестве контроля, такую же дозу исходного препарата, не подвергавшегося химическому воздействию. Реакцию учитывали через 24 и 48 часов по диаметру гиперемии и инфильтрата участка кожи. Данные учета реакций на введение сенсibilизированным морским свинкам модифицированных аллергенов *Cl. perfringens* типа А приведены в таблице.

Таблица

Активность модифицированных аллергенов *Cl. perfringens* типа А после химической обработки

Аллерген	Диаметр кожной реакции (в мм) на введение аллергенов			
	серия 1		серия 2	
	M ± m	P	M ± m	P
Исходный	13,3 ± 1,21		13,6 ± 1,6	
Деаминированный	3,3 ± 0,65	<0,001	2,8 ± 0,67	<0,001
Формализированный	3,6 ± 0,58	<0,001	3,3 ± 0,77	<0,001
Ацетилированный	9,5 ± 0,92	>0,1	10,5 ± 1,05	>0,1
Йодированный	1,9 ± 0,53	<0,001	1,3 ± 0,46	<0,001

Примечание. M — средний диаметр гиперемии; ± m — квадратичная ошибка среднего значения; P — достоверность разницы реакций на модифицированные и исходные препараты.

Представленные данные показывают, что йодирование аллергена *Cl. perfringens* типа А приводило к снижению его активности в 7 раз, причем наряду с уменьшением площади и яркости гиперемии у всех животных наблюдалось отсутствие инфильтратов. Аналогичные данные приводят И. В. Зарецкая и Г. А. Горчакова (1963) по дизентерину. Известно, что действие йода на белки наиболее избирательно проявляется по отношению к циклическим аминокислотам тирозину и гистидину. Следовательно, можно предположить, что эти аминокислоты имеют существенное значение при воспроизведении кожной аллергической реакции.

В дезаминированных препаратах *Cl. perfringens* типа А аллергенная активность значительно уменьшалась (до 24% активности исходных препаратов). В процессе дезаминирования действие азотистой кислоты на белки вызывает в них отщепление свободных аминогрупп с одновременным диазотированием аминокислот тирозина и триптофана, которые, по данным Г. А. Максимовой и В. Ф. Руновой (1970), ответственны за специфическое действие аллергенов.

Активность формализированных препаратов из микробных тел *Cl. perfringens* снизилась в 4 раза и составляла 25% активности необработанных аллергенов. Эти данные совпадают с данными Т. М. Тараненко с соавт. (1971) о значении фенольных групп циклических аминокислот пестина в формировании аллергических реакций замедленного типа.

В наших опытах ацетилирование не вызвало статистически достоверного снижения специфической активности препаратов по сравнению с исходными. Landsteiner (1945) высказал предположение, что при ацетилировании наиболее интенсивно связываются гидроксильные группы аминокислот. По-видимому, эти группы существенного значения для проявления биологической активности аллергенов не имеют.

Таким образом, результаты проведенных исследований дают основание предполагать, что специфические свойства аллергена *Cl. perfringens* типа А связаны с наличием в его составе свободных аминогрупп и фенольных групп циклических аминокислот.

## Характеристика биологической активности аллергена *Cl. perfringens* типа А

*Н. Ф. Калининко, Л. Г. Подгорная. Харьков*

В настоящее время общепризнано, что тяжелое течение анаэробных инфекций обусловлено действием экзотоксинов, выделяемых клостридиями. В связи с этим исследователи уделяют большое внимание изучению токсинов и их действию на ткани. В то же время значение микробных тел клостридий в развитии патологии человека и животных изучено недостаточно. Многие клостридии находятся в большом количестве в желудочно-кишечном тракте, в пораженных тканях при хронических заболеваниях, выделяя токсин слабой активности или вовсе не выделяя его.

Из патогенных клостридий самым распространенным является *Cl. perfringens*. Он имеет тесный контакт с организмом человека и животных и поэтому может играть роль сенсибилизирующего агента. Это подтверждено нашими опытами по изучению повышенной чувствительности животных, сенсибилизированных микробными телами *Cl. perfringens* типа А к термоустойчивым фракциям этого микроорганизма (1972). Для целей диагностики гиперчувствительности организма к *Cl. perfringens* в нашей лаборатории получен очищенный аллерген из микробных тел указанного микроорганизма.

Настоящая работа посвящена изучению специфических свойств этого препарата. Аллерген получали по методу В. Ф. Руновой (1970), отличающемуся своей универсальностью и простотой. Для приготовления аллергена был использован штамм *Cl. perfringens* 28 (ВР6К) типа А. По сравнению с другими штаммами этого вида он, по данным Saserman с соавт. (1964), содержит общий соматический антиген, близкий по антигенным свойствам к другим штаммам. Полученный препарат представлял собой порошок белого цвета с остаточной влажностью 0,5—3% и содержанием белка (по Лоури) 50—70%. Препарат расфасован в ампулы. Всего было изготовлено 25 серий аллергена. Безвредность каждой серии испытывали путем подкожного введения содержимого трех ампул (разведенного в 3 мл физиологического раствора) по 0,5 мл белым мышам весом 18—20 г (по 6 мышей на серию) и содержимого пяти ампул, растворенного в 5 мл физиологического раствора, по 5 мл морским свинкам весом 300—350 г (по 3 морских свинки на серию). Наблюдения за животными в течение 20 дней дали основание считать аллерген безвредным: ни снижения веса, ни каких-либо местных патологических изменений у животных не было обнаружено.

С целью установления переносимой дозы для морских свинок навеску аллергена растворяли в соответствующем количестве физиологического раствора (рН 7,3) так, чтобы в 0,1 мл содержалось 50, 100, 250, 500, 750, 1000, 1500, 2000, 2500  $\gamma$  вещества. Интактным морским свинкам исследуемый материал вводили внутрикожно по 0,1 мл.

Результаты исследований каждой серии аллергена на 10 морских свинок показали следующее: дозы 50—1000  $\gamma$  не вызывали видимых реакций в коже; 1500  $\gamma$  у большинства животных также не обуславливали изменений и только при введении дозы 2000  $\gamma$  в месте инъекции через 24—48 часов возникала местная реакция в виде гиперемии, инфильтрации участков кожи диаметром 4—12 мм. Аналогичные изменения наблюдались и при испытании аллергенов в опытах на 10 кроликах весом 2—2,5 кг.

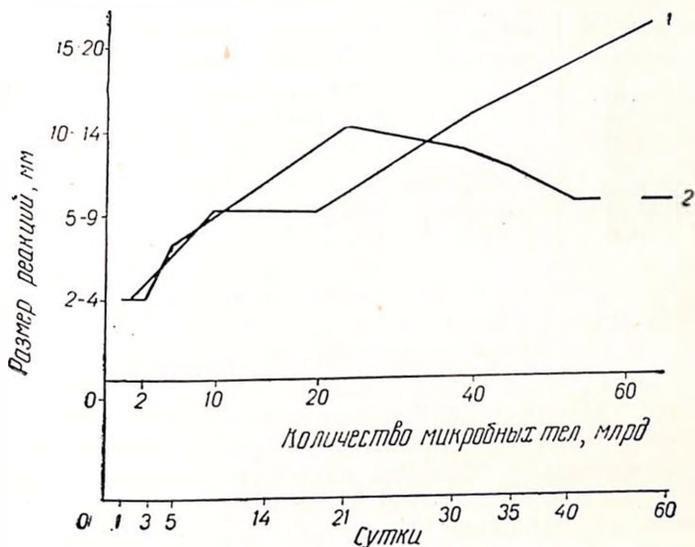
Влияние сенсibilизирующей дозы аллергена на проявление аллергических реакций замедленного типа изучалось в следующих опытах. Отдельным группам морских свинок вводили подкожно соответственно 2, 10, 20, 40, 60 млрд. формализированных микробных тел *Cl. perfringens* типа А (штаммы ВР6К и № 235). В каждой группе было 8—10 морских свинок. Разрешающую инъекцию аллергена (100  $\gamma$ ) вводили через 21 день после сенсibilизации. Результаты опытов дали основание считать, что сенсibilизирующий эффект микробных тел *Cl. perfringens* типа А зависит от их количества. Наиболее выраженными были реакции при сенсibilизации 40—60 млрд. микробных тел. При этом не имело существенного значения, каким штаммом производили сенсibilизацию — ВР6К или № 235.

В дальнейшем в опытах на морских свинках, сенсibilизированных оптимальной дозой (40—60 млрд.) микробных тел, мы установили, что на введение 50, 100, 200, 250, 300  $\gamma$  самые четкие кожные реакции отмечаются при внутрикожном введении 250  $\gamma$  аллергена.

С целью определения значения времени, прошедшего от сенсibilизации до введения разрешающей дозы аллергена, были проведены опыты на 60 морских свинках, сенсibilизированных 40 млрд. микробных тел *Cl. perfringens* типа А (ВР6К), которым вводили разрешающую инъекцию аллергена (250  $\gamma$ ) на 1, 3, 5, 10, 14, 21, 30, 35, 40, 50 и 60-е сутки.

Средние данные результатов опытов изучения гиперчувствительности кожи морских свинок на аллерген *Cl. perfringens* в зависимости от сенсibilизации их различным количеством одноименных микробных тел и влияния на гиперчувствительность животных срока между сенсibilизацией и разрешающей инъекцией аллергена представлены на рисунке. Из приведенных данных вид-

но, что внутрикожное введение аллергена *Cl. perfringens* типа А уже через 5 дней после сенсibilизации вызывает аллергическую реакцию замедленного типа. Однако наиболее интенсивная реакция возникает через 21 день после сенсibilизации. Следует отме-



Характер кожных реакций морских свинок на введение аллергена *Cl. perfringens*. Кривые зависимости интенсивности реакции:

1 — от сенсibilизирующей дозы *Cl. perfringens*; 2 — от срока введения аллергена после сенсibilизации.

тить, что гиперчувствительность к аллергенам *Cl. perfringens* типа А у сенсibilизированных животных наблюдается продолжительное время (60 суток и более).

Известно, что введение аллергена может обусловить гиперчувствительность к нему организма. В этой связи представляло интерес проверить аллерген *Cl. perfringens* типа А в качестве сенсibilизирующего агента. Одновременно мы пытались установить значение дозы аллергена в выявлении гиперчувствительности организма. Опыты проводили на 50 морских свинках, на которых ранее определяли чувствительность к аллергенам *Cl. perfringens* типа А. Разрешающую дозу той же серии аллергена вводили внутрикожно в количестве 250  $\gamma$ . Средние данные опытов представлены в таблице.

Средние данные о реакции морских свинок на повторное введение аллергена *Cl. perfringens* типа А

Количество животных	Количество аллергена, введенного первично, γ	Кожная реакция на повторное введение аллергена, мм
5	100	0
5	250	0
6	500	0
6	750	0
8	1000	0
10	2000	5±2
10	4500	7±3

Следовательно, сенсibilизация большими дозами аллергена (2000—4500 γ) может обусловить проявление кожных реакций замедленного типа. Меньшие дозы аллергена не вызвали гиперчувствительности животных.

Очень важно также было установить, специфичен ли аллерген *Cl. perfringens*. С этой целью 40 морских свинок (по 10 в каждой группе) сенсibilизировано 40 млрд. микробных тел *E. coli*, стафилококка, *Proteus vulgaris* и *Pseudomonas aeruginosa*. На 21-й день после сенсibilизации животным внутрикожно

вносили 0,1 мл аллергена *Cl. perfringens*. При учете реакций через 24—48 часов после разрешающей инъекции аллергена существенных изменений в коже морских свинок не обнаружено. Следовательно, кожные реакции замедленного типа, обусловленные аллергеном *Cl. perfringens* типа А, являются специфическими.

Таким образом, результаты изучения аллергена, полученного из микробных тел *Cl. perfringens* типа А, позволяют сделать следующий вывод. В опытах на морских свинках аллерген оказался безвредным. При внутрикожном введении аллергена разрешающая доза его, вызывающая реактивные изменения в коже, для сенсibilизированных животных была в 5 и более раз меньше, чем для интактных.

Интенсивность аллергических реакций замедленного типа у животных, сенсibilизированных микробными телами *Cl. perfringens*, зависела от количества микробных тел и времени, прошедшего с момента сенсibilизации. Оптимальные условия для проявления гиперчувствительности к *Cl. perfringens* — введение 40—60 млрд. микробных тел через 15—30 дней после сенсibilизации.

Аллерген *Cl. perfringens* типа А специфичен — он обуславливает появление реакций у животных, сенсibilизированных другим штаммом этого вида микроба, и не активен у животных, сенсibilизированных другими видами микроорганизмов.

## Лейкотоксическая и летальная активность токсина ботулизма типа А при разделении на сефадексе Г-200

А. В. Целух, П. З. Протченко. Одесса

Токсин ботулизма обладает выраженным лейкотоксическим действием *in vivo* и *in vitro* (С. М. Минервин и др., 1956; В. Р. Савин, 1960; И. А. Сытник, 1969, и др.). Для ускоренной диагностики ботулизма предложен метод фагоцитарного показателя, основанный на способности ботулинического токсина угнетать, а добавленных *in vitro* типоспецифических противоботулиновых сывороток — восстанавливать фагоцитарную активность лейкоцитов крови больного (С. М. Минервин, 1961).

Представляет интерес изучение характера связи специфического токсического действия ботулинического токсина с его лейкотоксической активностью, результаты которого могут иметь существенное значение для решения вопроса о выборе антигена для иммунизации животных с целью получения полноценных лечебных и диагностических противоботулиновых сывороток.

Однако природа лейкотоксина ботулизма не выяснена. По данным И. А. Сытника (1969), наиболее выраженным лейкотоксическим действием обладают токсины ботулизма типов А и В, затем — типа С, а токсины типов Д и Е — в меньшей мере. Автор обнаружил, что токсины с большей летальной активностью обладают и большим лейкотоксическим действием, и сделал вывод о наличии связи между этими двумя факторами.

В проведенных ранее работах использовались неочищенные препараты токсина, что не позволило однозначно решить вопрос о характере связи летальных и лейкотоксических его свойств. С равной вероятностью лейкотоксическая активность могла быть обусловлена самостоятельным, но накапливающимся в те же сроки, что и летальный токсин, компонентом или прямым действием на фагоцитарную активность лейкоцитов собственно летальной фракции. В пользу первого предположения как будто свидетельствуют наблюдения Греетан (1961), который показал отсутствие лейкотоксической активности у кристаллического токсина ботулизма типа А в опытах *in vitro* с лейкоцитами крови мышей и кроликов. Однако токсин ботулизма представляется гетерогенным, и летальная активность присуща фракциям токсина с разным молекулярным весом. Так, по данным Wagman, Valeman (1951, 1954, 1963), ботулинический токсин типа А при рН 7,5 может содержать около 14% токсина с молекулярным весом 158 000, а основная часть токсина имеет молекулярный вес около 900 000. Авторы также обна-

руживали при рН 9,2 мелкие осколки токсина с молекулярным весом 2900—3800, еще обладавшие токсическим действием.

Gerwing с соавт. (1965) выделяли из токсина типа А токсическую фракцию с молекулярным весом 12 200. В. Б. Фрейман, В. К. Голшмид и И. М. Михайлова (1967) обнаружили в нативном токсине ботулизма типа А при разделении на сефадексе Г-200 основную токсическую активность фракции с молекулярным весом более 200 000, около  $\frac{1}{3}$  активности — фракции с молекулярным весом, близким к 160 000, и около 1% — фракции с молекулярным весом, близким к 65 000.

В настоящей работе была поставлена задача изучить связь летальной и лейкотоксической активности токсина ботулизма типа А при его разделении на сефадексе Г-200.

В опытах был использован сухой токсин ботулизма типа А серии 167/170, полученный из Института эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи. Навеску токсина растворяли в 0,01 М фосфатном буферном растворе с рН 7,0 с добавлением 0,14 М NaCl, после чего фильтровали через бумажный фильтр и использовали для нанесения на колонку, заполненную сефадексом Г-200 в том же буферном растворе. Гель-фильтрацию проводили при скорости тока 18—20 мл/час при комнатной температуре или в рефрижераторе при температуре 4° (существенной разницы в зависимости от температурных условий не отмечалось). Анализ элюата на содержание белка проводили по Лоурн. Результат одного из опытов представлен на рисунке.

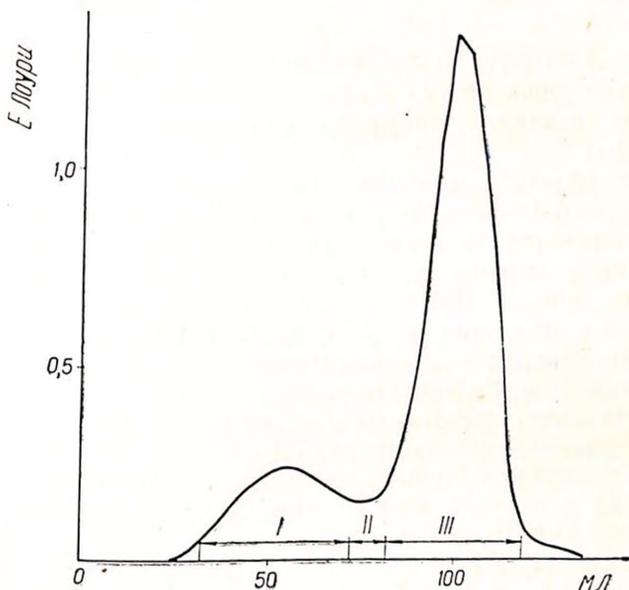
Как видно из рисунка, при гель-фильтрации на сефадексе Г-200 токсин ботулизма типа А разделялся на две основные фракции. Одна из них, выходящая первой, являлась высокомолекулярным компонентом и составляла всего около 17% нанесенного количества белка. Вторая, более значительная, содержала низкомолекулярные компоненты. Между этими двумя фракциями, соответствующими двум пикам белка, не было четкой границы, между ними располагались фракции с промежуточным молекулярным весом.

Фракции, соответствующие пикам белка, а также промежуточные между двумя пиками, в которых содержание белка было наименьшим, объединяли. Таким образом было получено три фракции: I — высокомолекулярная, выходящая в свободном объеме колонки, II — промежуточная и III — низкомолекулярная, выходящая во внутреннем объеме.

Во всех фракциях определяли концентрацию белка по Лоурн, а затем для определения летальной активности готовили двукратно убывающие разведения физиологическим раствором и вводили подкожно белым мышам весом 25—30 г (по 4 мыши на дозу). LD<sub>50</sub> рассчитывали по Керберу (И. П. Ашмарин и А. А. Воробьев, 1962). Летальную активность выражали числом LD<sub>50</sub> на 1 мг бел-

ка, так как нас интересовала в первую очередь удельная активность фракций.

Лейкотоксическую активность фракций определяли в опытах *in vitro*. Фракции разводили до содержания 200 мкг/мл и такие растворы использовали для постановки фагоцитарной реакции. К трем объемам цитратной крови человека добавляли один объем какой-либо фракции или исходного токсина, а в качестве контроля — один объем буферного раствора. Пробирки выдерживали в термостате 30 минут при температуре 37°, затем добавляли один объем 2 млрд.



Разделение токсина ботулизма типа А на сефадексе Г-200.

Колонка 16×400 мм, нанесено 23,4 мкг токсина в 7 мл 0,01 М фосфатного буферного раствора с рН 7,0.

суспензии стафилококка (штамм № 209) и через 30 минут выдерживания при 37° готовили мазки для подсчета фагоцитарного показателя. Рассчитывали отношение фагоцитарного показателя контроля (добавление буферного раствора) к фагоцитарному показателю опыта (добавление токсина или фракции) и получали показатель кратности снижения фагоцитарной активности лейкоцитов под действием токсина.

Результаты опытов представлены в таблице.

Из представленных данных видно, что наибольшей летальной активностью обладала фракция I, содержащая белки с молекулярным весом более 200 000. Ее активность в 1,4—1,6 раз превышала активность исходного токсина. Промежуточная II фракция

Летальная и лейкотоксическая активность фракций токсина ботулизма типа А

I фракция		II фракция		III фракция		Исходный токсин	
LD <sub>50</sub> ,мг	$\frac{\text{ФП}_k}{\text{ФП}_o}$						
9505	1,48	2262	1,47	<200	1,07	5656	1,07
6725	1,90	2967	1,0	<20	1,03	4755	1,42
7429	1,46	4609	1,38	21	0,96	5262	1,53

оказалась в 2—4 раза менее активной, чем I фракция, а III фракция обладала лишь весьма малой летальной активностью. Исходный токсин оказался примерно одинаково активным (4755—5656 LD<sub>50</sub>/мг).

Следует обратить внимание на относительно низкую активность исходного токсина ботулизма типа А. Она может быть связана с длительным хранением препарата сухого токсина. Кроме того, вероятно влияние фосфатного буферного раствора рН 7,0, так как, по данным Abgams с соавт. (1946), токсин ботулизма в нейтральной и щелочной среде подвергается быстрой инактивации. Необходимо учитывать и сравнительно невысокую растворимость использованного нами препарата сухого токсина, в результате чего часть токсина оказывалась в осадке и отфильтровывалась. Вполне вероятно, что нерастворяющаяся часть представляет собой именно высокомолекулярный, легко денатурирующий компонент, обладающий летальной активностью; так как использование для определения активности нефилтрованного токсина со взвешенными частичками нерастворившегося препарата дает повышение активности в 15—20 раз. В полученном нами растворе исходного токсина высокомолекулярная фракция составляла всего 17%, что говорит о сравнительно низкой степени очистки препарата сухого токсина либо о разной растворимости отдельных белковых компонентов.

Наиболее выраженной лейкотоксической активностью обладала I фракция (фагоцитарная активность лейкоцитов уменьшалась в 1,46—1,9 раза), II фракция снижала фагоцитоз в несколько меньшей степени и непостоянно, а III фракция практически не обладала лейкотоксическим действием.

Таким образом, летальная и лейкотоксическая активность оказались сопутствующими друг другу, лейкотоксические свойства были присущи лишь фракциям, обладавшим летальной активностью.

В какой мере можно говорить об идентичности летального и лейкотоксина — покажут дальнейшие исследования, так как гель-

Фiltrация не позволяет выделить индивидуальные компоненты белковой смеси, если они незначительно различаются по молекулярному весу. Для решения вопроса о природе лейкотоксина целесообразно применение ионообменной хроматографии. Фракционирование сухого токсина ботулизма типа А на сефадексе Г-200 не позволило разделить летальную и лейкотоксическую активность.

### **Разработка условий получения концентрированных препаратов колицинов шигелл Зонне**

О. И. Емельянова, И. М. Лейбова. Харьков

За последние два десятилетия накопились факты, свидетельствующие о роли эпизодических элементов микробной клетки, детерминирующих определенные свойства бактерий. К их числу относятся профаги, R-факторы, бактериоцины и др. Работами зарубежных и отечественных исследователей показано, что многие бактерии продуцируют *in vitro* вещества, обладающие антибактериальным действием по отношению к представителям гомологичного или филогенетически близких родов бактерий. Эти вещества получили название бактериоцинов.

Феномен бактериоциногенности широко распространен среди представителей семейства энтеробактерий, где он, в связи с тем, что впервые был обнаружен среди кишечных палочек, известен под названием колициногенности, а вещества, ими продуцируемые, — колицинов. В дальнейшем колицины были выявлены и у других родов, входящих в состав *Enterobacteriaceae*. Однако подробно это свойство изучено лишь у представителей рода *Escherichia*. Сведения о колициногенности рода шигелл и, в частности, шигелл Зонне, в настоящее время крайне недостаточны: нет систематизированных данных о типах колицинов и их свойствах, о факторах, влияющих на их продукцию, о действии колицинов шигелл Зонне на других представителей кишечной микрофлоры и т. д. Для решения указанных задач необходимо получить колицин в чистом виде, свободный от микробных клеток и балластных компонентов питательной среды.

Целью настоящего исследования явилась разработка условий получения очищенных высокоактивных колицинов различных штаммов шигелл Зонне.

Предварительно по общепринятой методике с использованием трех индикаторных штаммов *E. coli* (φ, К-12 и В) была определена колициногенность 700 штаммов шигелл Зонне, выделенных от

больных в период 1965—1971 гг. и хранившихся при температуре 4° в лиофилизированном состоянии.

Исследование показало, что среди изученных культур преобладали штаммы, продуцирующие колицины, частота их обнаружения колебалась в пределах 75,0—90,7% в различные годы. В среднем колициногенные штаммы составляли 82,4%. Это дает основание предположить, что колициногенность шигелл Зонне является их видовым признаком и, следовательно, еще раз свидетельствует о необходимости изучения колицинов и установления их роли в биологии возбудителя.

Исходя из известного положения, что для получения разных типов колицинов требуются различные оптимальные условия, а также в связи с отсутствием сведений о типах колицинов, продуцируемых шигеллами Зонне, мы провели серию опытов на эталонных штаммах коллекции Фредерика с целью моделирования условий получения колицинов разных типов. В опыте были отобраны штаммы, продуцирующие только один колицин, штаммы с двойной колициногенностью не испытывались.

«Перекрестно-полосчатым» методом (Fredericq, 1948) определено влияние химических веществ ( $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , глюкозы и генцианвиолета) на колицинообразование эталонных штаммов Фредерика продуцентов колицинов типов В, К, G, С, I, F, D, S<sub>4</sub>.

Было установлено, что  $\text{CaCl}_2$  в 1% концентрации стимулировал продукцию в плотных питательных средах колицина типа D, на продукцию остальных исследуемых типов колицинов это вещество влияния не оказывало. Нейтральными для колицинообразования были также  $\text{NaHCO}_3$  и  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ . Глюкоза в 1% концентрации угнетала продукцию колицинов В, К, D и не влияла на выработку колицинов I и F. Обнаруженное нами угнетение колицинообразования под влиянием глюкозы подтверждает данные Matsushita и др. (1960), Papavasiliou (1963), В. Г. Лиходеда (1963). Следует подчеркнуть, что исследователи приводят противоречивые сведения о влиянии глюкозы на продукцию колицинов и в настоящее время нет единого мнения о механизме действия этого углевода на синтез колицинов.

Стимулирующее действие на колицинообразование большинства типов в условиях наших экспериментов оказывал генцианвиолет.

В связи с тем, что бактериоциногенез, как известно, может осуществляться лишь в полноценных питательных средах и почти отсутствует в синтетических, мы в своих исследованиях применяли обычные жидкие питательные среды с различными добавлениями. Сопоставление пригодности бульонов (мясопептонного, Мартена и

Хоттингера) для накопления колицинов показало, что все они в равной мере могли служить этой цели. Добавление к питательному бульону хлористого кальция или глюкозы в различных концентрациях не оказывало заметного влияния на выход колицинов, в отличие от данных, полученных нами в опытах на плотных питательных средах.

Генцианвиолет в определенной концентрации стимулировал продукцию колицинов типов В, G, S<sub>4</sub>, S<sub>5</sub> и А.

Материалы, характеризующие активность изученных колицинов, представлены в табл. 1.

Таблица 1  
Характеристика колицинов различных типов, полученных при культивировании штаммов коллекции Фредерика

Штамм-продукцент колицина	Тип продуцируемого колицина	Количество полученных серий					
		всего	с титром (в усл. ед.)				
			0	10—40	80—320	640—1280	2560—5120
Ca-31	A	1	—	—	—	—	1
Ca-18	B	9	5	2	1	1	—
Ca-57	C	2	2	—	—	—	—
Ca-23	D	5	—	1	3	—	1
Ca-42	F	6	—	3	3	—	—
Ca-46	G	2	—	1	—	—	1
Ca-58	H	2	2	—	—	—	—
Ca-53	I	8	3	5	—	—	—
K-235	K	9	4	1	4	—	—
Ca-7	V	6	—	2	4	—	—
P-1	S <sub>1</sub>	8	8	—	—	—	—
P-15	S <sub>4</sub>	6	1	1	3	1	—
P-14	S <sub>5</sub>	2	—	—	1	—	1

Из табл. 1 видно, что различные типы колицинов накапливались в жидких питательных средах в неодинаковой степени. Так, в условиях наших опытов получить колицины типов С, Н и S<sub>1</sub> оказалось невозможным: все серии колицинов указанных типов были неактивными. Колицины типов А, D, G и S<sub>5</sub> накапливались в питательной среде в значительной концентрации: отдельные серии колицинов этих типов содержали до 2560—5120 условных единиц в 1 мл препарата (за условную единицу было принято максимальное разведение колицина, оказывавшее ингибирующее действие на индикаторный штамм).

В этом разделе исследований были отработаны стандартные условия получения колицинов и методы их титрации, которые в

дальнейшем использовались для получения колицинов шигелл Зонне и определения их активности.

Мясопептонный бульон (рН 7,65—7,7, аминный азот не менее 56 мг%) в объеме 1 л с добавленным водным раствором генцианвиолета заражали суспензией 24-часовой агаровой культуры штамма-продуцента колицина и выращивали при температуре 37° в течение 48 часов. К выросшей бульонной культуре добавляли хлороформ в соотношении 1 : 10 и оставляли в термостате еще на 24 часа, после чего бульонную культуру центрифугировали при 5,5 тыс. об/мин.

Активность полученного препарата проверяли луночным методом. Двукратные разведения колицина вносили в лунки, сделанные штампом стандартного диаметра в 1,5% мясопептонном агаре, залитом в чашку Петри. Чашки оставляли при комнатной температуре в течение 20—24 часов для диффузии препарата в агар; затем на поверхность чашки насливали 0,7% агар, содержащий 0,1 мл 4-часовой бульонной культуры одного из индикаторных штаммов *E. coli* φ, K-12 или В. После 24-часовой инкубации в термостате производили учет результатов по наличию зон подавления роста индикаторных штаммов.

Сопоставление различных методов титрации колицинов — метода титрации в пробирках, метода нанесения колицина в виде капель на поверхность агара, орошенного индикаторной культурой, и луночного метода, свидетельствует о том, что последний является наиболее чувствительным и позволяет выявить колицины в тех случаях, когда двумя другими методами они не обнаруживаются.

Следующим этапом наших исследований было получение колицинов шигелл Зонне. Из 22 колициногенных штаммов, выделенных у больных дизентерией, было получено 36 серий колицинов. Данные о накоплении колицинов шигелл Зонне в жидких питательных средах представлены в табл. 2.

Материалы табл. 2 свидетельствуют о том, что все исследованные штаммы, продуцировавшие колицин в плотных питательных

Таблица 2

Сравнительная характеристика колицинов шигелл Зонне в зависимости от условий культивирования

Среда, на которой получен колицин	Количество полученных серий										
	всего	с титром (в усл. ед.)									
		0	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560—5120
Мясопептонный бульон	15	—	6	3	2	2	1	—	—	—	—
Мясопептонный бульон + генцианвиолет	21	—	—	1	1	3	3	2	1	4	6

средах, сохраняли это свойство и при культивировании их в бульоне. Однако титры их колебались в довольно широком диапазоне — от 10 до 5120 условных единиц. Можно проследить четкую зависимость между степенью накопления колицина и наличием или отсутствием в среде культивирования генцианвиолета. Так, в средах, не содержащих генцианвиолета, титры колицинов в основном не превышали уровня 160 условных единиц, добавление же его к бульону способствовало накоплению колицинов в концентрации 320—5120 условных единиц, т. е. увеличивало продукцию колицина в 2,32 раза. Наши результаты, свидетельствующие о стимулирующем действии генцианвиолета на продукцию колицинов у шигелл Зонне, соответствуют материалам С. Ф. Боруновой и Б. М. Гирдо (1966), изучавших влияние этого вещества на колицинообразование у *E. coli*.

Следует отметить, что на титр колицинов оказывало влияние также и качество питательного бульона: при недостаточном содержании аминного азота (ниже 56 мг%) выход колицина, несмотря на добавление генцианвиолета, был низким. По-видимому, на продукцию колицинов, помимо указанных факторов, влияют также и индивидуальные свойства штамма-продуцента, так как из 22 изученных культур 8 штаммов, при многократном варьировании условий выращивания, продуцировали колицины только в низких титрах.

Для очистки и концентрации нативных колицинов (центрифугатов культуральной жидкости) шигелл Зонне проведено сравнительное изучение эффективности различных методов, используемых для очистки и концентрации бактериальных антигенов. Были испытаны: а) метод осаждения серноокислым аммонием при насыщении с последующим диализом; б) метод кислотного изоэлектрического осаждения на холоду; в) двухэтапный метод очистки, сочетающий оба названных метода — высаливание серноокислым аммонием на первом этапе и изоэлектрическое осаждение — на втором.

Результаты проведенных исследований показали, что наиболее эффективным методом очистки и концентрации нативных колицинов шигелл Зонне является двухэтапный, позволяющий получать очищенные препараты колицинов с наиболее высокой удельной активностью как по азоту, так и по белку.

Были разработаны оптимальные условия очистки нативных колицинов шигелл Зонне: определены концентрация кислоты, используемой для изоэлектрического осаждения, и значение рН изоэлектрической точки осаждения активной субстанции колицинов. Последнее определено при проведении фракционного изоэлектрического осаждения колицинов при разных значениях рН. В табл. 3

Таблица 3

Результаты очистки и концентрации колицинов, полученных из центрифугатов бульонных культур шиггелл Зонне

№ серии	Этап очистки	г/мл	Кратность кон-центрации по объему	Актив-ность, усл. ед./мл	Общий азот, мг%	Белок, мг%	Удельная актив-ность, усл. ед./мг			Очистка, %			Коэффициент очистки		Выход по ак-тивно-сти, %	
							по азоту	по белку	по белку	по азоту	по белку	по азоту	по белку			
16	Исходный	220	—	120	471,0	164	25,5	73,0	—	—	—	—	—	—	—	—
	I	100	2,2	250	36,8	180	675,0	138,5	96,44	49,70	26,5	1,88	94,7	—	—	—
24	Исходный	720	—	20	513,0	192	3450,0	555,0	99,72	89,02	135,0	7,6	83,2	—	—	—
	I	200	3,6	70	110,0	430	3,9	10,4	—	—	—	—	—	—	—	—
25	Исходный	600	—	30	573,0	226	700,0	112,5	94,05	37,70	16,3	1,55	97,0	—	—	—
	I	100	6,0	160	175,4	1100	5,23	13,6	99,38	88,70	180,0	10,8	≈100	—	—	—
26	Исходный	600	—	20	622,0	185	91,0	14,5	—	—	—	—	—	—	—	—
	I	100	6,0	80	109,0	680	640,0	108,0	94,90	19,50	17,4	1,07	88,7	—	—	—
	Исходный	12	50,0	1280	200,0	1200	3,2	10,8	99,30	91,40	122,5	7,9	85,0	—	—	—
	II	12	50,0	500	186,0	1160	73,3	11,8	—	—	—	—	—	—	—	—
							268,0	43,1	97,08	28,70	22,9	1,01	66,7	—	—	—
									99,40	87,40	83,5	3,98	50,0	—	—	—

представлены данные по очистке и концентрации четырех серий нативных колицинов двухэтапным методом. Они свидетельствуют о том, что разработанные условия позволяют получать очищенные препараты колицина, удельная активность которых и по азоту, и по белку сравнительно с нативными возрастает во много раз (от 83,5 до 180 по азоту и от 3,98 до 10,8 по белку).

Анализируя данные таблицы, можно заключить, что наибольшей активностью обладают препараты колицинов, полученные из нативных колицинов с более выраженной степенью удельной активности. Так, при очистке колицина серии 16 с удельной активностью 25 усл.ед./мг азота и 73 усл.ед./мг белка получены препараты, удельная активность которых составляла 3450 усл.ед./мг азота и 555 усл.ед./мг белка; в то же время при очистке колицинов серий 24, 25 и 26, удельная активность которых была значительно ниже, чем серии 16, препараты, полученные в результате очистки и концентрации, также имели менее выраженную удельную активность.

Полученные концентрированные колицины были высушены лиофильным методом, причем сухие препараты почти не изменяли свою активность по сравнению с исходной. Сухой колицин хорошо растворялся в воде. Следует отметить, что колицины Зонне и в жидком состоянии сохраняли свою антибактериальную активность в течение года (срок наблюдения).

Таким образом, результаты проведенных исследований позволили установить, что шигеллы Зонне продуцируют колицины не только в плотных, но и в жидких питательных средах. На процесс колицинообразования у шигелл Зонне оказывают влияние условия культивирования (добавление различных ингредиентов, полноценность питательной среды и др.) и индивидуальные свойства штаммов-продуцентов. Это обстоятельство дает основание предположить, что среди указанных микробов, как и среди представителей рода *Escherichia*, типовой состав продуцируемых колицинов неоднороден.

В процессе очистки и концентрации колицинов шигелл Зонне были получены препараты высокой степени очистки, удельная активность которых значительно возросла по сравнению с нативными.

## Определение типового состава колицинов, продуцируемых шигеллами Зонне, с помощью антиколициновых иммунных сывороток

О. И. Емельянова. Харьков

В настоящее время известны 24 типа колицинов — антибиотических веществ, продуцируемых представителями семейства кишечных бактерий, различающихся по физико-химическим и антигенным свойствам, по специфичности действия и т. д. Отдельным родам этого семейства присуще свойство продуцировать колицины определенных типов. Так, среди *E. coli* чаще обнаруживаются штаммы, продуцирующие колицины типа V (Fredericq, 1948); среди *E. freundii* — колицин А (Fredericq, 1948), среди салмонелл — колицин I (Vassiliadis et al., 1960), среди *S. typhi* — колицин В (Nicolle, Prunet, 1964), среди патогенных кишечных палочек — колицины E, I, G, B (Fredericq, 1948; В. Г. Лиходед и Д. Г. Кудлай, 1963).

Наиболее подробно изучены колицины, продуцируемые представителями рода *Escherichia*. В международной коллекции Фредерика из 17 штаммов-продуцентов колицинов различных типов 15 относятся к роду *Escherichia* и только 2 — к роду *Shigella* (*Sh. dysenteriae boydii* — продуцент колицина типа  $S_1$  и *Sh. dysenteriae sonnei* — продуцент колицина типов  $S_3+I$ ). Почти все исследования свойств отдельных типов колицинов проведены с использованием штаммов *E. coli*.

Вопрос о колицинах шигелл Зонне изучен недостаточно. Данные литературы и наши наблюдения свидетельствуют о том, что колициногенность присуща подавляющему большинству штаммов шигелл Зонне, в отличие от других видов шигелл, в частности *Sh. flexneri*. Колицины, продуцируемые шигеллами Зонне, могут быть отнесены к группе E. Однако они не идентифицированы в связи с тем, что применяемый для этих целей метод, основанный на селекционировании мутантов индикаторного штамма, устойчивых к одному известному типу колицина, не позволяет дифференцировать колицины группы E на типы, входящие в ее состав (E<sub>1</sub>, F, G, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>, S<sub>5</sub> и др.). Таким образом, до настоящего времени остается неясным вопрос: являются ли колицины, продуцируемые шигеллами Зонне, однородными по своему типовому составу, или они, как и штаммы *E. coli*, продуцируют колицины различных типов.

Для решения поставленной задачи требуется иной методический подход, поэтому мы пошли по пути определения иммунологической специфичности колицинов, продуцируемых шигеллами Зонне.

Таблица 1

Перекрестная чувствительность штаммов Зонне к продуцируемым ими колицинам

Пассивные штаммы	Штаммы-продуценты колицина		
	378	424	1173
378	—	+	+
424	+	—	+
1173	+	+	—

В своих предварительных исследованиях мы исходили из известного положения, что штамм, продуцирующий определенный тип колицина, остается устойчивым (иммунным) к колицину гомологичного типа. Следовательно, если испытуемый колициногенный штамм оказывался чувствительным к колицину другого штамма, то их колицины можно квалифицировать как гетерологичные. В то же время устойчивость к колицину не всегда может быть объяснена продукцией колицина гомологичного типа, так как она может явиться следствием отсутствия у штамма соответствующего рецептора.

Исходя из изложенного, мы предприняли изучение перекрестной чувствительности к колицинам штаммов шигелл Зонне, которые в предыдущих исследованиях были использованы как продуценты для получения жидких колицинов. Всего испытано 22 колициногенных штамма. В основу исследования был положен модифицированный метод Фредерика, где продуцентами колицина и индикаторными культурами служили испытуемые штаммы. В результате опытов были отобраны 3 штамма, каждый из которых оказался чувствительным к колицинам 2 других. Эта зависимость отражена в табл. 1, где знаком плюс обозначена чувствительность к колицину, знаком минус — ее отсутствие.

Полученные результаты дали основание предположить гетерологичность типов колицинов, продуцируемых штаммами, представленными в табл. 1. Условно типы колицинов были обозначены номером штамма продуцента: 378, 424 и 1173.

С помощью этих штаммов были изготовлены колицины типов 378 и 424 для иммунизации кроликов. Титры препаратов, использованных для иммунизации, находились в пределах 1280—5120 условных единиц. Всего было иммунизировано 10 кроликов. Антигены вводили 8—10-кратно с интервалом в 3—4 дня по различным схемам — внутривенно и подкожно, сорбированные и несорбированные, в стабильных и нарастающих дозах. Введение колицина животным, как правило, сопровождалось падением их веса на 200—600 г.

Титр сыворотки определялся в реакции нейтрализации, которая проводилась по следующей методике.

К двукратным разведениям исследуемой сыворотки добавляли тест-дозу колицина гомологичного типа, смесь помещали в термостат при 37° на 2 часа

для связывания. Затем содержимое пробирок вносили в агаровые лунки и оставляли на 24 часа при комнатной температуре для диффузии остаточного количества в агар, наличие которого в свободном состоянии в системе количин-антиколичин определяли с помощью индикаторных штаммов Фредерика E. coli K-12 и  $\phi$ .

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что колицины шигелл Зонне обладают достаточно выраженными антигенными свойствами. Вопрос об антигенных свойствах бактериоцинов до 1955 г. решался отрицательно. (Впервые антиколициновая сыворотка была получена Goebel с соавт. к колицину типа K, продуцентом которого являлась E. coli K-235). В последующие годы антибактериоцидные сыворотки, нейтрализующие антибактериальную активность этих веществ, различные исследователи получали с переменным успехом. По-видимому, это объясняется качеством препаратов, используемых для иммунизации животных. Многие исследователи применяли для этих целей нативную культуральную жидкость.

Полученные нами антиколициновые сыворотки были активными в реакции нейтрализации в достаточно высокой степени (1 : 160—1 : 320). Лиофильное высушивание не снижало их титра. Внутривенное введение колицина в условиях наших опытов не вызвало образования соответствующих антител. Мы не могли также отметить значительного преимущества схемы иммунизации сорбированным на Al(OH)<sub>3</sub> препаратом. В процессе иммунизации были приготовлены антиколициновые сыворотки типов 378 и 424. Результаты исследования специфичности антиколициновых сывороток в реакции нейтрализации с гомологичными и гетерологичными колицинами представлены в табл. 2.

Из данных табл. 2 следует, что полученные в опытах иммунизации антиколициновые кроличьи сыворотки были достаточно спе-

Таблица 2

Специфичность антиколициновых сывороток в опытах нейтрализации с гомологичными и гетерологичными колицинами

№ серии колицина	Условный тип колицина	Тест-доза колицина в условных единицах	Индикаторные штаммы E. coli	Наличие реакции нейтрализации в сыворотках типа		Размер зоны подавления роста колицином (контроль), мм
				378	424	
2	378	160	$\phi$	+	—	10
			K-12	+	—	9
48	424	20	$\phi$	—	+	10
			K-12	—	+	3
58	1173	80	$\phi$	—	—	3
			K-12	—	—	3

## Типирование колицинов шигелл Зонне по международной классификации

Метод типирования	Условный тип испытуемой сыворотки	Типы колицинов Зонне			Типы колицинов Фредерика							
		378	424	1173	Д	F	G	I	K	S <sub>4</sub>	V	В
Реакция нейтрализации	378	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	424	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Преципитация в геле	378	+	-	-	-	+	-	-	-	-	±	-
	424	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+

Примечание. В таблице приведены суммарные данные двух- и трехкратно повторенных опытов.

цифичны, так как нейтрализовали колицины только гомологичного типа. Данные реакции нейтрализации полностью подтвердили наше предположение о гетерологичности типов колицинов, продуцируемых штаммами шигелл Зонне 378, 424 и 1173, и показали их иммунологическую обособленность. Они подтвердили также возможность первичного отбора штаммов с гетерологичными колицинами проверкой их перекрестной чувствительности к продуцируемым колицинам на плотных питательных средах.

В опытах нейтрализации с полученными нами двумя типами антиколициновых сывороток были испытаны препараты колицинов 11 штаммов шигелл Зонне, выделенных от больных. В результате исследований все колицины были отнесены к условному типу 378, так как нейтрализовались гомологичной антиколициновой сывороткой. Следует отметить, что все указанные штаммы при перекрестной проверке их чувствительности на плотных питательных средах по методу Фредерика к колицину штамма 378 оказались устойчивыми.

Следующим этапом наших исследований явилась идентификация колицинов, продуцируемых шигеллами Зонне по международной классификации. Идентификация проводилась параллельно двумя методами: в реакции нейтрализации и двойной диффузионной преципитации в агаровом геле по Оухтерлони. В системе испытывали полученные нами антиколициновые сыворотки двух типов (378 и 424) и препараты колицинов различных типов, полученных из штаммов коллекции Фредерика. Результаты опытов приведены в табл. 3.

Из табл. 3 видно, что сыворотка типа 378 нейтрализовала колицин Фредерика типа F и образовала при взаимодействии с этим

колицином две четкие линии преципитации. Кроме того, была отмечена одна нечеткая линия преципитации с колицином типа V, реакция нейтрализации с этим колицином была отрицательной.

На основании полученных данных можно полагать, что штамм 378 продуцирует колицин, близкий по антигенным свойствам или идентичный типу F.

Антиколициновая сыворотка штамма 424, как это видно из табл. 3, нейтрализовала колицин G и давала четкие линии преципитации с тремя типами колицинов: B (две линии), G (одна линия) и F (две линии). Это дает основание считать, что штамм 424, по-видимому, является продуцентом двух или даже трех типов колицинов — G, B и F. Предположение о множественной колициногенности штамма 424 подтверждается результатами опытов перекрестной чувствительности шигелл Зонне к колицину указанного штамма, где почти все испытанные культуры образовывали двойную зону задержки роста, что, как известно, свидетельствует о продукции нескольких колицинов.

Явления множественной бактериоциногенности у штаммов *E. coli* описаны Chabert (1950), Gratia, Fredericq (1947) и др. Наши данные свидетельствуют о том, что среди шигелл Зонне также может наблюдаться явление множественной колициногенности.

Колицин типа 1173 не реагировал с исследованными нами сыворотками, что свидетельствует о его иммунологической обособленности.

Анализируя полученные материалы, можно прийти к выводу, что колицины, продуцируемые шигеллами Зонне, обладают достаточно выраженными антигенными свойствами. По своим свойствам изученные колицины были иммунологически разнородными, что дало возможность предположить, а затем и доказать наличие среди изученных штаммов не менее трех обособленных типов колицинов. По-видимому, число типов колицинов у штаммов этого рода по мере накопления материалов будет увеличиваться.

Результаты проведенного исследования показали также принципиальную возможность типирования продуцируемых шигеллами Зонне колицинов по международной классификации с помощью иммунных типоспецифических сывороток. Этот метод может быть использован для дифференциации штаммов шигелл Зонне с целью эпидемиологической метки.

## Колициногенные и вирулентные свойства кишечных палочек, выделенных у больных дизентерией Зонне

М. Г. Жебракова. Харьков

В последние годы много внимания уделяется изучению роли условно-патогенных микробов при кишечных расстройствах и выяснению тех биологических свойств этих микробов, которые могут проявиться в процессе взаимодействия последних с микрофлорой организма, а также под влиянием различных факторов (антибиотики, бактериофаги, бактериоцины).

Мы изучали биологические свойства кишечных палочек, выделенных у больных дизентерией Зонне. Были изучены кишечные палочки, изолированные у здоровых детей, в анамнезе которых не было каких-либо кишечных расстройств; кишечные палочки, изолированные у детей, бывших в общении с больными дизентерией в очагах этого заболевания; кишечные палочки, выделенные у детей, больных дизентерией клинической, не подтвержденной бактериологически, и у детей, больных дизентерией, подтвержденной бактериологически.

Исследование показало, что наряду с кишечными палочками, имеющими свойства (морфологические, культуральные, ферментативные), присущие типичным эшерихиям, во всех группах, кроме группы здоровых детей, выделялись кишечные палочки с измененными свойствами. Изменения выражались в потере подвижности, понижении сахаролитической активности и изменении обмена веществ, близкого к обмену дизентерийного микроба. Обмен веществ палочек мы изучали в опытах макролюминесценции по методу предложенному А. П. Кононенко (1959). При этом было выявлено, что количество кишечных палочек с измененными свойствами было наибольшим ( $P < 0,05$ ) у больных с бактериологически подтвержденной дизентерией.

Целью настоящей работы было изучение вирулентности измененных форм кишечных палочек, а также антагонистические свойства колициногенных и неколициногенных кишечных палочек, выделенных у больных дизентерией, по отношению к шигеллам Зонне и Флекснера, колициногенным и неколициногенным.

Для изучения вирулентных свойств измененных форм кишечных палочек мы использовали метод интраназального заражения белых мышей, предложенный М. К. Войно-Ясенецкой (1957). Метод основан на количественном учете высеваемости микробов, введенных в легкие мышей, с последующим посевом на чашки со средой Левина (сразу после заражения — контроль — и затем че-

Таблица 1

Характеристика штаммов кишечной палочки, взятых в опыт интраназального заражения

Штамм №	Сахаролитические свойства		Подвижность	Свечение в опытах макролюминесценции	Агглютинация сыворотками	
	Лактоза	Глюкоза			Флекснера	Зонне
570	Кг	Кг	+	Желтое	+++	+++
928	Кг	Кг	—	»	+++	+++
725	—	К	+	Оранжевое	+++	—
1020	Кг	Кг	—	Желтое	—	—
1274	—	К	—	Красное	—	—
1275	К	К	+	»	—	—
5670	К	К	—	»	—	—
6079	Кг	Кг	+	»	—	—
6305	Кг	К	—	Оранжевое	—	—
6999	Кг	Кг	—	Красное	—	—
7705	К	Кг	+	Оранжевое	++	++
8048	—	Кг	—	»	—	—
8330	К	К	+	»	—	—
8338	К	К	—	Желтое	—	—
8343	Кг	К	—	»	—	++
8344	Кг	Кг	—	Красное	—	—
8419	Кг	Кг	+	»	+++	++
8501	Кг	Кг	+	»	—	—

Примечание. Кг — кислота и газ, К — кислота, — отсутствие ферментации или агглютинации, неподвижные палочки; + — подвижные; +++ — агглютинация на 4 креста, ++ — агглютинация на 3 креста, + — агглютинация на 2 креста.

рез 3, 6, 9 и 24 часа — опыт). Сравнивая количество микробов, попавших в легкие при заражении и имеющихся там спустя 24 часа, можно по интенсивности размножения судить о вирулентности изучаемых культур. Достоверные данные получаются в опытах со свежeweделенными культурами.

В опыт взято 18 штаммов кишечной палочки с измененными свойствами (табл. 1). Для сравнения мы брали штамм *E. coli* № 173, выделенный у здорового ребенка, *Sh. flexneri* № 1363 — музейный штамм, и штамм *Sh. sonnei* № 30469 — свежeweделенный (табл. 2).

В опыт были взяты мыши весом 10—15 г. Под легким эфирным наркозом через нос животным вводили по 0,025 мл суточной бульонной культуры кишечной палочки, разведенной с таким рас-

## Результаты опытов интраназального заражения белых мышей

Штаммы	Количество выделенных колоний, через часы				
	0	3	6	9	24
<i>E. coli</i> 173	567	326	207	42	0
<i>Sh. flexneri</i> 1363	552	599	728	317	124
<i>Sh. sonnei</i> 30469	860	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
<i>E. coli</i> 570	387	159	13	31	0
» 725	322	126	83	30	47
» 928	324	646	183	7	0
» 1020	318	130	147	239	0
» 1274	249	19	16	7	11
» 1275	135	203	111	132	20
» 5670	500	179	302	54	6
» 6079	281	697	233	294	174
» 6305	768	229	325	374	74
» 6999	521	489	518	83	32
» 7705	761	512	408	571	28
» 8048	598	657	344	56	0
» 8330	658	624	540	551	571
» 8338	565	698	721	1000	1000
» 8343	551	690	211	61	23
» 8344	150	48	97	41	114
» 8419	406	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
» 8501	728	> 1000	> 1000	> 1000	162

четом, чтобы каждая мышь получила по 6—8 млн. микробных тел. Такая доза каждой культуры вводилась 12 мышам. Трех мышей забивали сразу после заражения и через 3, 6, 9 и 24 часа.

Бактериологические исследования проводили путем количественного учета микробов в легочной ткани. Для этого легкие, извлеченные на вскрытии, тщательно растирали с 1 мл физиологического раствора, затем 0,1 мл этой эмульсии разводили в 10 раз и засеивали на чашку со средой Левина. Таким образом, по нашим расчетам, в засеиваемой эмульсии предполагалось наличие 300—400 микробных клеток. Подсчет выросших колоний производили на следующий день.

Затем с учетом разведений и засеиваемой дозы определяли количество жизнеспособных клеток возбудителя в легких (средняя для 3 мышей). Сравнивая количество возбудителя в контроле опыте, судили об интенсивности размножения кишечных палочек. За критерий вирулентности мы принимали увеличение количества колоний кишечной палочки к 24 часам не менее чем в 2 раза.

Результаты проведенных исследований представлены в табл. 2.

Как видно из данных табл. 2, к 24 часам *E. coli* № 173 не высеивались из легких мышей. Количество *Sh. flexneri* № 1363 к это-

Таблица 3  
Колициногенность кишечных палочек

Группа обследованных	Количество изученных штаммов	
	всего	колициногенные, %
Больные дизентерией Зонне	375	33,3
Больные дизентерией клинической	56	35,7
Дети, общавшиеся с больным дизентерией в очагах	184	52,7
Здоровые	35	63,0

му сроку уменьшилось в 5 раз, что, возможно, объясняется длительным сохранением этого штамма в лабораторных условиях (М. К. Войно-Ясенецкая, 1957). Количество колоний свежeweделенного штамма Sh. Sonnei № 30469 увеличилось во много раз (подсчет оказался невозможным). При заражении мышей 13 из 18 штаммов взятых в опыт кишечных палочек количество выделенных колоний к 24 часам уменьшалось, а при заражении 5 из них посев в этот срок оказался отрицательным. В то же время можно было отметить, что при заражении штаммами кишечных палочек № 8330, 8338, 8344 и 6079 число их к 24 часам

не уменьшилось, а при заражении штаммом № 8419 — увеличилось более чем в 2 раза.

Таким образом, в опытах интраназального заражения белых мышей нам удалось выявить вирулентность измененных штаммов кишечных палочек только у 5 из 18 изученных. Возможно, это объясняется тем, что к моменту проведения опытов срок хранения выделенных из организма больных кишечных палочек составлял около двух лет.

При изучении колициногенных свойств кишечных палочек, изолированных из кала обследованных детей, было установлено, что кишечные палочки, выделенные у здоровых детей, обладали большей колициногенностью, чем палочки, изолированные у больных дизентерией ( $P < 0,05$ , табл. 3).

В целях изучения влияния колицинов кишечных палочек, выделенных у больных различных групп, на шигеллы, нами было проведено восемь опытов совместного культивирования, или, как мы условно называли их, опытов вытеснения. Изучались кишечные палочки колициногенные и неколициногенные, а также колициногенные и неколициногенные шигеллы Зонне, выделенные у больных 22-й инфекционной больницы Харькова, и музейный штамм палочки Флекснера (колициногенный).

Опыт проводили следующим образом. Суточную агаровую культуру смывали физиологическим раствором, устанавливали стандарт 500 млн. микробных тел в 1 мл и добавляли в равных

## Результаты опытов вытеснения

Вид микроба	Показатель вытеснения	P
<i>E. coli</i> колициногенный + <i>Sh. sonnei</i> колициногенный	+1,3	>0,05
<i>E. coli</i> неколициногенный + <i>Sh. sonnei</i> колициногенный	-1,5	>0,05
<i>E. coli</i> колициногенный + <i>Sh. sonnei</i> неколициногенный	+6	<0,05
<i>E. coli</i> неколициногенный + <i>Sh. sonnei</i> неколициногенный	-1,1	>0,05
<i>E. coli</i> колициногенный + <i>Sh. flexneri</i> колициногенный	+15	<0,05
<i>E. coli</i> неколициногенный + <i>Sh. flexneri</i> колициногенный	+7,9	Мало на- блюдений
<i>E. coli</i> колициногенный + <i>Sh. flexneri</i> неколициногенный	+24	<0,01
<i>E. coli</i> неколициногенный + <i>Sh. flexneri</i> неколициногенный	+10,3	<0,01

количествах (по 0,1 мл) в 5 мл мясопептонного бульона с рН 7,2. После 3—4-часовой инкубации в термостате при 37° одну петлю стандартного диаметра бульонной культуры засеивали на чашку со средой Левина.

Культуры смешивали в следующих комбинациях: колициногенные эшерихии и шигеллы, неколициногенные эшерихии и шигеллы, колициногенные эшерихии и неколициногенные шигеллы, неколициногенные эшерихии и колициногенные шигеллы. Таким образом, всего было восемь смесей. Учет результатов проводили на следующий день путем подсчета выросших на чашках колоний. Для контроля одну петлю суточной культуры на том же бульоне каждого изучаемого штамма засеивали отдельно на чашку с той же средой. Колонии дизентерийных палочек определяли под контролем агглютинации на стекле.

В табл. 4 приведены сводные данные после подсчета колоний во всех опытах и определения показателя вытеснения. За показатель вытеснения мы принимали отношение количества колоний эшерихий к количеству колоний шигелл.

Число со знаком плюс показывает во сколько раз количество первых превышает количество вторых, число со знаком минус — во сколько раз количество колоний эшерихий меньше числа колоний шигелл.

Данные табл. 4 показывают, что кишечные палочки, колициногенные и неколициногенные, вытесняли в условиях наших опы-

тов дизентерийные палочки Флекснера, более слабо действовали на неколициногенную палочку Зонне и практически не действовали на палочку Зонне колициногенную.

Следовательно, можно отметить явное антагонистическое действие кишечных палочек на шигеллы Флекснера и более слабое или отсутствие такого действия на шигеллы Зонне. Возможно, антагонистическое действие связано с колициногенностью кишечных и дизентерийных палочек и является одной из причин наблюдаемого изменения этиологии дизентерии, а именно вытеснения палочки Флекснера палочкой Зонне.

### **Влияние сыворотки и других ингредиентов крови на антибактериальную активность хлорофиллипта**

*В. Л. Надтока. Харьков*

Известно, что химический состав плазмы крови и ее форменных элементов, как и других субстратов организма, существенно отличается от состава искусственных питательных сред, используемых для выращивания микробов *in vitro* и изучения действия антибактериальных препаратов. Поэтому судить о перспективности препарата для клиники можно лишь после установления прямого и косвенного влияния на его активность упомянутых факторов.

Под косвенным влиянием подразумевается изменение различных сторон метаболизма микробной клетки, приводящее к изменению ее чувствительности к препарату. Прямое влияние биологических субстратов на активность препарата определяется непосредственным действием их на препарат, оно может проявляться в образовании белковых комплексов, в которых препарат находится в обратимых или необратимых связях.

В опытах *in vitro* нами было изучено действие на активность хлорофиллипта сыворотки крови, эритроцитов, лейкоцитов, гамма-глобулина, альбумина и солей сыворотки крови. В исследованиях мы использовали патогенные штаммы антибиотикорезистентных стафилококков (№ 10-Л, 599, 425, 777, 56, 616 и др.), выделенные от больных, страдающих стафилококковыми заболеваниями различной локализации.

Опыты ставились в мясопептонном бульоне, физиологическом растворе и среде 199 (среда для выращивания клеток культуры тканей). Предварительными опытами была обнаружена более высокая активность хлорофиллипта в среде 199, чем в мясопептонном бульоне: в среде 199 бактерицидная доза его составляла 3—6 мкг/мл, в МПБ — 12—25 мкг/мл.

Было проведено четыре серии опытов. В первой серии смесь, состоящую из хлорофиллипта и одного из указанных выше субстратов, титровали в бульоне; затем в каждую пробирку добавляли по 10 000 микробных клеток трехчасовой бульонной культуры стафилококка и после тщательного смешивания пробирки ставили в термостат. Через 3, 6 и 24 часа производили высеивание из каждой пробирки на свежие питательные среды (бульон и агар). Вторая серия опытов отличалась от первой тем, что вместо бульона брали физиологический раствор, в третьей — дистиллированную воду и в четвертой — среду № 199.

Влияние эритроцитов на активность хлорофиллипта изучалось на чувствительном к антибиотикам штамме стафилококка № 10. При этом было установлено, что после 3—6-часового контакта смеси хлорофиллипта и эритроцитов со стафилококками препарат оказывает на последние только бактериостатическое действие, начиная с дозы 3 *мкг/мл*. При пересеве через 3 часа из пробирок на кровяной агар выросшие отдельные колонии стафилококка не дают гемолиза. После 24-часовой экспозиции в термостате бактериостатическая доза хлорофиллипта равна 50 *мкг/мл*, а бактерицидная — 100 *мкг/мл*, тогда как хлорофиллипт *per se* оказывает бактериостатическое действие на тот же штамм стафилококка в дозе 3 *мкг/мл*, а бактерицидное — в дозе 6,25 *мкг/мл*.

Результаты этих опытов побудили нас изучить влияние эритроцитов на активность хлорофиллипта в отношении антибиотикоустойчивых стафилококков (штамм 599). Данные, полученные в этих исследованиях, представлены в табл. 1.

Из табл. 1 видно, что 3 часа контакта с хлорофиллиптом в смеси с эритроцитами обуславливают резкое и стойкое угнетение размножения микробных клеток и пигментогенеза.

Нами было исследовано ингибиторное действие эритроцитарной массы не только на антибактериальную активность хлорофиллипта, но и на активность гамма-глобулина сыворотки крови, содержащей консервант (нативный гамма-глобулин испытуемых серий антибактериального действия в отношении взятых в опыт стафилококков не оказывал).

В опыт было взято три серии человеческого гамма-глобулина: № 9, 10 и 11 (1966 г.). Исследования проводились многократно на антибиотикоустойчивых штаммах стафилококков. Результаты их приводятся в табл. 2, из которой видно, что хлорофиллипт *per se* проявляет бактериостатическое действие в отношении стафилококков штамма № 56 в дозе 6,25 *мкг/мл*, а бактерицидное — в дозе 12,5 *мкг/мл*. Испытуемый гамма-глобулин обладал только бактериостатической активностью.

Таблица 1

Влияние хлорофиллипта на чувствительные к нему микробы в присутствии эритроцитов

Наименование микроорганизма	Время контакта с эритроцитами, часы	Концентрация хлорофиллипта, мкг/мл						Контроль
		100	50	25	12,5	6,25	3	
Золотистый стафилококк № 599	3	0	Ед Сжк	Отд Сжк	Отд Сжк	Отд Жси	Отд Жск	+Зк
	24	0	Отд Сжк	+Сжк	+Сжк	+Сжк	+Сжк	+Зк
	3	Ед Сжк	Ед Сжк	Отд Лк	Отд Лк	Отд Лк	Отд Лк	+Лк
	24	0	Отд Сжк	Отд Сжк	Отд Лк	Отд Лк	Отд Лк	+Лк

Обозначения: 0 — отсутствие роста колоний; Ед — рост единичных колоний; Отд — рост отдельных колоний; + — рост штрихом; Бк. — белесые колонии; Лк — лимонно-желтые колонии; Сжк — светло-желтые колонии; Зк — золотистые колонии.

В последующих таблицах — обозначения те же.

В табл. 3 приведены данные учета опытов после 24-часовой инкубации в термостате, которые свидетельствуют, во-первых, о том, что хлорофиллипт не только не теряет своей активности в отношении стафилококка в комбинации с гамма-глобулином, но даже несколько усиливает ее, а во-вторых, о том, что антибактериальное действие гамма-глобулина также угнетается эритроцитарной массой.

Ингибиторное действие эритроцитов проявляется в первые часы контакта, но не в такой степени, чтобы вызвать полную инактивацию препарата, последний, как мы уже отмечали, сохраняет бактериостатическое действие в отношении микроба. Важно отметить, что угнетение активности хлорофиллипта эритроцитами не наблюдается в живом организме, о чем свидетельствует его высокая эффективность в клинике. В частности, взятые в данный опыт штаммы стафилококка были выделены от больных, у которых после лечения хлорофиллиптом наступило полное выздоровление.

Гамма-глобулин *per se* полностью инактивировался в присутствии эритроцитов в бульонной среде.

В отношении стафилококков штаммов № 425 и № 777 хлорофиллипт в комбинации с гамма-глобулином оказался в несколько раз активнее, чем хлорофиллипт *per se* (табл. 4).

Усиление антибактериальной активности хлорофиллипта в смеси с гамма-глобулином, нам представляется, можно объяснить об-

Таблица 2  
Влияние эритроцитарной массы на активность хлорофиллита и гамма-глобулина в отношении стафилококка штамма № 56

Препарат	Концентрация хлорофиллита, мкг/мл															Контроль		
	100					25					1,5							
	1	3	1	3	1	1	3	1	3	1	1	3	1	3	1	1	3	1
Время контакта с культурой, часы																		
Хлорофиллит	0	0	0	0	0	Ед	Ед	Ед	Ед	Ед	0	0	0	0	0	Ед	Ед	Ед
Гамма-глобулин серия № 10	Ед	Ед	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Хлорофиллит + гамма-глобулин	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Ед	Ед	Ед	Ед	Ед	Ед	Ед	Ед
Хлорофиллит + эритроциты	Ед	Ед	Отд	Отд	Отд													
Гамма-глобулин + эритроциты	Ед	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Хлорофиллит + гамма-глобулин + эритроциты	Ед	Ед	Отд	Отд	Отд													

Таблица 3

Влияние эритроцитарной массы на активность хлорофиллипта и гамма-глобулина в отношении стафилококка штамма (№ 56 при 24-часовом контакте с культурой)

Препарат	Концентрация хлорофиллипта, мкг/мл							Контроль
	1000	50	25	12,5	6,25	3	1,5	
Хлорофиллипт	0	0	0	0	Отд	+	+	+
Гамма-глобулин серия № 9	Отд	Отд	Отд	Отд	Отд	+	+	+
Гамма-глобулин+ +хлорофиллипт	0	0	0	0	0	+	+	+
Гамма-глобулин+ +эритроциты	+	+	+	+	+	+	+	+
Хлорофиллипт+ +эритроциты	0	Отд	+	+	+	+	+	+
Хлорофиллипт+ +гамма-глобулин+ +эритроциты	Отд	+	+	+	+	+	+	+

разованием белковых комплексов хлорофиллипта с гамма-глобулином. На это указывают данные электрофореграммы: при фракционировании подвижность гамма-глобулина в смеси с хлорофиллиптом отличалась от электрофореграммы гамма-глобулина *per se*, что дает основание предположить образование различных по своим физико-химическим и биологическим свойствам белковых комплексов.

Таблица 4

Синергидное действие хлорофиллипта с гамма-глобулином в отношении стафилококков

Препарат	Штамм № 425		Штамм № 777	
	Количество препарата, мк /мл			
	БСД*	БЦД	БСД	БЦД
Гамма-глобулин серия № 42	1000	0	600	0
Хлорофиллипт	6	12	3	6,25
Гамма-глобулин+хлорофиллипт	0,75	1,5	0,75	1,5

\* БСД — бактериостатическая, БЦД — бактерицидная доза препарата.

Влияние лейкоцитарной массы на активность хлорофиллипта в отношении стафилококка № 425

Препарат	Концентрация хлорофиллипта, <i>мкг/мл</i>							Контроль
	100	50	25	12,5	6,25	3	1,5	
Хлорофиллипт	0	0	0	0	Отд	+	+	+
Хлорофиллипт+лейкоцитарная масса	0	Отд	+	+	+	+	+	+

Мы попытались установить обратимость связи гамма-глобулина с хлорофиллиптом с помощью бензольной экстракции смеси. Однако опыты показали, что в смеси гамма-глобулина с хлорофиллиптом только 25% общего количества хлорофиллипта экстрагируется бензолом, остальные 75% находятся в крепкой связи с гамма-глобулином и не могут быть экстрагированы. Эти результаты также свидетельствуют в пользу предположения об образовании белковых комплексов хлорофиллипта с гамма-глобулином.

Следующая серия опытов была посвящена изучению действия лейкоцитов на хлорофиллипт. Результаты исследований представлены в табл. 5, из которой видно, что лейкоциты в пробирке также угнетают антибактериальную активность хлорофиллипта. Так, бактерицидная доза хлорофиллипта для стафилококка № 425 равна 12,5 *мкг/мл*, но при добавлении в среду лейкоцитарной массы она увеличивается до 100 *мкг/мл*, а в отношении стафилококка № 599 бактерицидная доза с 12,5 возрастает до 50 *мкг/мл*.

Серией опытов, посвященной изучению действия сыворотки крови на антибактериальную активность хлорофиллипта, было установлено некоторое угнетение активности препарата сывороткой (табл. 6).

Из табл. 6 видно, что если бактерицидная доза хлорофиллипта в отношении стафилококка Д равна 6,25 *мкг/мл*, то в смеси с сывороткой — 25 *мкг/мл*.

Как известно, связывание сывороткой всех химиотерапевтических веществ осуществляется лишь за счет альбумина. Учитывая это, мы провели экспериментальное исследование влияния альбумина сыворотки крови на активность хлорофиллипта в отношении стафилококков. Общее представление о действии хлорофиллипта в смеси с альбумином можно получить из табл. 7, где представлены результаты многократных опытов по изучению анти-

Таблица 6

Влияние сыворотки крови человека на антибактериальную активность хлорофиллипта в отношении стафилококка штамма Д

Препарат	Концентрация хлорофиллипта, мкг/мл								Контроль
	100	50	25	12,5	6,25	3	1,5	0,75	
Спиртовой раствор хлорофиллипта	0	0	0	0	0	+	+	+	+
Сыворотка в разведении 1:20	Отд	+	+	+	+	+	+	+	+
Хлорофиллипт сыворотка	0	0	0	Отд	+	+	+	+	+
Контроль 96% спирт в разведении 1:5	+	+	+	+	+	+	+	+	+

бактериального действия препарата в отношении высокопатогенного антибиотикорезистентного золотистого стафилококка № 56.

Как видно из данных табл. 7, альбумин незначительно снижал бактерицидную активность хлорофиллипта в опытах *in vitro* и не влиял на бактериостатическое его действие. Это дает основание считать, что роль альбуминов в транспортировке лекарственных веществ в организме распространяется и на хлорофиллипт.

В специальной серии опытов было изучено влияние солей сыворотки крови на активность хлорофиллипта. В качестве раство-

Таблица 7

Влияние альбумина сыворотки крови на антибактериальную активность хлорофиллипта в отношении стафилококка № 56

Препарат	Антибактериальное действие	Концентрация хлорофиллипта, мкг/мл				Контроль
		$M \pm m$	$\sigma$	$t$	$p$	
Хлорофиллипт	Бактериостатическое	$3,2 \pm 0,2$	0,774	4,14	$< 0,001$	+
	Бактерицидное	$6,4 \pm 0,402$	1,56	4,1	$< 0,001$	+
Хлорофиллипт + альбумин	Бактериостатическое	$6,8 \pm 0,544$	2,11	3,2	$< 0,001$	+
	Бактерицидное	$45 \pm 2,75$	10,68	4,2	$< 0,001$	+

Влияние различных солей на активность спиртового раствора хлорофиллипта

Растворитель	Концентрация хлорофиллипта, мкг/мл							Контроль
	100	50	25	12,5	6,25	3	1,5	
0,9% изотонический раствор	0	0	0	0	0	0	+	+
Изотонический 0,9% раствор «Norgmosal» № 445	0	0	0	0	0	0	+	+
0,25% раствор новокаина	0	0	0	0	0	0	Ед	+
	0	0	0	0	+	+	+	+
	0	0	0	Отд	+	+	+	+

рителя применяли, наряду с изотоническим раствором хлорида натрия, еще изотонический раствор, приготовленный из солей сыворотки крови «Norgmosal» (серия 445, Дрезден). Полученные растворы были семикратно испытаны на антибактериальную активность в отношении патогенного стафилококка штамма № 56. Результаты опытов приводятся в табл. 8.

Опыты показали, что спиртовой раствор препарата, приготовленный на физиологическом растворе хлористого натрия, более активен, чем раствор, приготовленный на 0,25% растворе новокаина, и менее активен, чем приготовленный на физиологическом растворе комплекса солей нормальной человеческой сыворотки «Norgmosal» № 445 (табл. 8).

Опыт ставился в МПБ с суточной культурой стафилококка № 599.

### Терапевтическая эффективность хлорофиллипта при экспериментальной стафилококковой инфекции

В. Л. Надтока. Харьков

В работе представлены результаты изучения терапевтической эффективности хлорофиллипта при экспериментальной стафилококковой инфекции у белых мышей, вызванной устойчивыми к антибиотикам патогенными стафилококками, а также при стафилококковом конъюнктивите у кроликов, вызванном коагулазонегативными стафилококками.

Стафилококковая септицемия воспроизводилась путем внутрибрюшинного введения культур. В опыты были взяты тест-штам-

мы № 599, 777, 425 и др. В предварительных опытах *in vitro* было установлено, что эти культуры резистентны к пенициллину и стрептомицину, чувствительны к сигмамицину и высокочувствительны к антибактериальному действию хлорофиллипта. В опытах был использован также музейный штамм стафилококка № 209-Р, чувствительный к антибиотикам.

Внутрибрюшинное введение микробной суспензии в изотоническом 0,9% растворе хлорида натрия (1 млрд. микробных клеток) вызывало 100% гибель белых мышей весом 15—16 г в течение 3 суток. Внутрибрюшинное введение 500 млн. микробных клеток указанных штаммов приводило к более затяжному течению септического процесса и гибели животных в более поздние сроки — до 7—10-го дня после заражения.

Предварительно была определена терапевтическая доза препарата. Суточную дозу его (125 мкг в 0,5 мл) вводили животным внутривенно два раза в сутки. Лечение продолжалось 5—6 дней. Наблюдения над животными проводились в течение 15—17 дней. Критериями терапевтической эффективности хлорофиллипта были выживаемость животных и высеваемость из органов введенной при заражении культуры, а также сроки освобождения организма от микробов.

Первая серия опытов была поставлена на модели так называемого затяжного течения стафилококковой инфекции. Белые мыши заражались внутрибрюшинно путем введения 500 млн. микробных клеток указанных выше тест-штаммов стафилококка. Все животные (960) были разделены на три группы (соответственно вводимым штаммам стафилококка), а каждая группа — еще на четыре группы по 80 животных.

Животным 1-й группы вводили хлорофиллипт внутривенно за 3 дня до заражения, а затем по одному разу в сутки в течение 3 дней после заражения. Животные 2-й группы получали препарат одновременно с заражением; 3-й — хлорофиллипт через 24 часа после заражения, и животные 4-й — лечения не принимали (контроль).

Суточная доза вводимого препарата — 125 мкг.

Хлорофиллипт оказался эффективным средством при экспериментальной стафилококковой инфекции, вызванной антибиотикорезистентными культурами стафилококка № 599, № 425 и № 777 (табл. 1). Выживаемость животных составляла 67,5—95,0% в зависимости от срока применения препарата. Особенно эффективным было предварительное введение препарата и одномоментное его введение после трехчасового контакта с культурой. У мышей, погибших в процессе лечения хлорофиллиптом, и у животных

Таблица 1  
 Результаты исследования действия хлорофиллита при экспериментальной стафилококковой инфекции

Штамм стафи- лококка	Группа животных	Количество павших животных по дням														Общее коли- чество павших животных		Тера- певти- ческий эфф. эк- сперим. %	Тир- ность препа- рата, %
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	абс.	в %		
		2	4	12	16	2	4	12	16	2	4	12	16	2	4				
599	1-я	2	2	2	2	1	0	1	0	0	0	0	0	1	2	8	100	90,0	
	2-я	4	2	2	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	14	17,5	82,5	
	3-я	12	5	10	15	12	4	2	0	0	0	0	0	0	0	26	32,5	67,5	
	4-я (контроль)	16	10	10	15	12	4	3	2	4	4	2	2	2	1	80	100	—	
425	1-я	4	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	7,5	92,5	
	2-я	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	5,0	95,0	
	3-я	12	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18	22,5	77,5	
	4-я (контроль)	15	9	9	9	9	5	4	4	4	5	6	4	2	80	100	—		
777	1-я	0	3	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	7,5	92,5	
	2-я	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2,5	97,5	
	3-я	8	2	2	3	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	16	20,0	80,0	
	4-я (контроль)	10	13	13	14	8	6	6	4	4	3	3	1	0	78	97,5	—		

Таблица 2

Показатели терапевтической эффективности хлорофиллипта при экспериментальной инфекции, вызванной стафилококком № 425

Группа животных	Исследованные органы и ткани	Высеваемость стафилококка из тканей в динамике по дням										
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
Получавшие хлорофиллипт одновременно с заражением	Перитонеальная жидкость	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0
	Почка	+	+	+	0	+	0	0	0	0	0	0
	Печень	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Селезенка	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0
	Кровь	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Сердце	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0
	Легкие	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Контроль	Перитонеальная жидкость	+	+	0	+	+	0	+	0	0	—	
	Почка	+	+	+	+	+	+	+	0	+	—	
	Печень	+	+	+	+	+	0	+	+	0	—	
	Селезенка	+	+	+	+	+	0	+	+	+	—	
	Кровь	+	+	+	+	+	0	+	+	+	—	
	Сердце	+	+	+	+	0	+	+	0	+	—	
	Легкие	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	

Обозначения: + — наличие, 0 — отсутствие роста микробов, — не определялось.

контрольной группы стафилококки из органов высевались в большом количестве.

Данные о распределении микробов в органах оставшихся в живых животных приведены в табл. 2. На 4-й день лечения органы подопытных животных в основном освобождаются от введенных стафилококков, к 6-му дню они высевались только из почек. В контрольной группе животных стафилококки продолжали высеваться до 10-го дня включительно.

Поскольку действие нового лечебного препарата легче всего оценить, сравнивая его с действием хорошо изученного и применяемого в клинике препарата, мы провели сравнительное изучение эффективности антибиотиков и хлорофиллипта при лечении стафилококкового сепсиса у белых мышей.

У белых мышей с помощью стафилококка № 209-Р была вы-

звана затяжная стафилококковая инфекция, которая обуславливала гибель животных на протяжении 8 дней. Лечение начинали одновременно с заражением. Препарат вводили внутривенно. Всего в опыте было 120 мышей, которые составили 6 групп по 20 животных в каждой.

В табл. 3 представлены результаты комбинированного применения хлорофиллипта с пенициллином и эритромицином при затяжном экспериментальном стафилококковом сепсисе у мышей, вызванном стафилококком № 209, чувствительным к эритромицину и нечувствительным к пенициллину. Показательны результаты применения комбинации хлорофиллипт+эритромици. Одновременно начатое лечение этой смесью в большей степени предохраняло от гибели животных, чем каждый из препаратов *per se*. При введении хлорофиллипта с пенициллином не было отмечено синергидного действия, напротив, терапевтическое действие препарата было несколько снижено.

Полученные в эксперименте данные свидетельствуют о возможности использования комбинации хлорофиллипта с эритромицином в клинике при лечении заболеваний, вызванных смешанной инфекцией, когда наряду со стафилококками имеется нечувствительная к хлорофиллипту флора.

Задачей следующей серии опытов было выяснение терапевтической эффективности хлорофиллипта при экспериментальном конъюнктивите, вызванном коагулазонегативными стафилококками, выделенными с поверхности долго незаживающих эрозий шейки матки.

В опыт были взяты стафилококки № 7, 18, 30, 47, 124 и 126 (табл. 4). Все эти штаммы, если исходить из современных представлений о патогенности, нельзя считать патогенными. Однако при введении под конъюнктиву глаза кролика 0,1 мл 1 млрд. суспензии одного из испытуемых штаммов уже через 18 часов у животного появлялось резко выраженное пролиферативное воспаление с гнойным отделяемым.

Всего было использовано 30 кроликов весом 2,0—2,5 кг. Подопытные животные были разделены на 6 групп, каждая из которых состояла в свою очередь из двух подгрупп. В 1-й подгруппе было 3 кролика, которым после появления ярко выраженного конъюнктивита два раза в сутки внутривенно вводили 250 мкг хлорофиллипта в объеме 2 мл, 2 животных 2-й подгруппы со стафилококковым конъюнктивитом получали спирт в соответствующем разведении.

Раствор хлорофиллипта для инъекций готовили разведением 1 мл 0,25% спиртового раствора хлорофиллипта в 19 мл изотонического 0,9% раствора хлорида натрия.

Таблица 3  
 Результаты исследования действия хлорофиллита в сочетании с эритромицином и пенициллином при экспериментальной стафилококковой инфекции у белых мышей, вызванной стафилококком № 209-Р

Препарат	Суточная доза препарата	Количество павших животных по дням										Общее количество павших животных				
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		11	12	13	
Пенициллин	5000 ЕД	3	3	2	2	3	0	0	1	2	0	0	0	0	0	16
Эритромицин	1000 ЕД	0	1	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6
Хлорофиллит	125 мкг	0	0	1	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	4
Хлорофиллит	125 мкг															
+пенициллин	+5000 ЕД	2	1	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6
Хлорофиллит	125 мкг															
+эритромицин	+1000 ЕД	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Контроль	—	2	1	3	2	2	3	2	3	0	0	0	0	0	0	18

Таблица 4  
 Биологические свойства стафилококков, взятых для воспроизведения экспериментального конъюнктивита у кроликов

Штамм №	Пигмент	Мачитт	Катализаза	Желатина	Лактосое молоко	Гемолиз	Коагулаза	Дермокортическая реакция	Вирулентность для белых мышей	Чувствительность к хлорофиллиту, мкг/мл	
										БСД	БЦД
7	Белый	—	0	+	+	0	0	Инфильтрат, гиперемиа	0	1,25±0,09	2,5±0,18
18	Лимонно-желтый	—	+	+	—	0	0	То же	0	5,4±0,6	10,8±1,2
30	Белый	+	+	0	+	0	0	»	+	4,2±0,7	8,4±1,4
47	Золотистый	+	+	+	+	0	0	»	0	5,4±0,6	10,8±1,2
24	Белый	—	+	+	+	+	0	»	0	2,7±0,3	5,4±0,6
126	Золотистый	+	+	+	+	0	0	»	0	2,7±0,3	5,4±0,6

Результаты опытов показали следующее. У всех леченых кроликов после двух первых инъекций (то есть в течение 24 часов) исчезли все воспалительные явления, тогда как у контрольных животных воспаление конъюнктивы наблюдалось на протяжении 5—6 дней.

Лечение проводилось под бактериологическим контролем отделяемого. При этом было установлено, что через 48 часов после начала лечения стафилококки во всех случаях не обнаруживались. У контрольных животных стафилококки высеивались в течение 4—5 дней.

Специальная серия опытов была поставлена нами с целью выяснения оптимального срока предварительного введения хлорофиллипта для предохранения животных от смертельных доз патогенных стафилококков.

Опыты проводились на 320 белых мышах весом 18—20 г. Все животные были разделены на две равные группы: 1-ю составили животные, получавшие хлорофиллипт за 3 дня до заражения, вторую — за 5 дней до заражения. В каждой группе было по четыре подгруппы: животные 1-й подгруппы получали хлорофиллипт внутривенно, 2-й — внутрь, 3-й — внутримышечно, животные 4-й, контрольной, подгруппы получали соответствующее разведение спирта. Суточная доза вводимого препарата — 125 мкг.

Через 3—5 дней после профилактического введения хлорофиллипта всем подопытным мышам внутривенно вводили 500 млн. микробных клеток патогенного золотистого стафилококка № 425. Предварительно было установлено, что эта доза вызывает стафилококковую инфекцию, заканчивающуюся гибелью животных. Результаты исследования представлены в табл. 5.

Как видно из данных табл. 5, только внутривенное введение препарата предотвращало гибель животных от стафилококковой инфекции. Введение хлорофиллипта per os и внутримышечно не оказывало такого действия. При внутривенном введении хлорофиллипта, кроме того, сокращался срок освобождения органов от стафилококка, это наблюдалось и при пероральном введении препарата, однако в меньшей мере.

Профилактическое действие хлорофиллипта при стафилококковом сепсисе, возможно, обуславливается его стимулирующим влиянием на факторы неспецифического иммунитета.

В настоящее время накопилось уже достаточно клинических наблюдений, подтверждающих данные, полученные в эксперименте. Как показали результаты лечения хлорофиллиптом заболеваний стафилококковой этиологии, эффективность его в клинике была значительно выше, чем в опытах на экспериментальной модели.

Таблица 5

Профилактическое действие хлорофиллипта при экспериментальной инфекции, обусловленной золотистым стафилококком № 425

Время и способ введения препарата	Количество животных в опыте	Количество погибших животных по дням										Общее количество погибших животных		Терапевтическая эффективность, %			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		13	абс.	%
После 3-дневного предварительного введения препарата	40	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	4	10,0	90,0
внутривенно	40	3	0	0	1	2	4	2	2	2	2	0	0	0	20	50,0	82,5
перорально	40	4	2	2	2	2	2	2	2	4	3	2	2	2	33	82,5	17,5
внутримышечно	40	6	5	3	2	2	4	3	2	4	2	2	1	1	40	100	—
Контроль																	
После 5-дневного предварительного введения препарата	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
внутривенно	40	1	2	0	0	0	0	2	2	1	2	0	0	0	12	30,0	70,0
перорально	40	4	1	3	2	2	3	2	1	3	3	3	2	0	29	72,5	27,5
внутримышечно	40	5	3	3	3	3	4	3	3	3	3	2	2	2	40	100	—
Контроль																	

## Содержание антистафилолизина в молоке женщин, привитых стафилококковым анатоксином

А. А. Валковцы. Тернополь

Одной из особенностей женского молока является высокое содержание в нем иммунных гамма-глобулинов (М. В. Сумцов, 1959). Можно думать, что, являясь носителями специфических антител, они могут в первые дни жизни ребенка играть какую-то роль в повышении его невосприимчивости.

Антитела, содержащиеся в материнском молоке, изучались многими исследователями (Ratner, Jackson, Gruchl, 1927; Sugg, 1935; Schneider, Papp, 1938; Sabin, 1950; Pinter, 1953; Nordbring, 1957, и др.). Большой интерес представляют исследования антител в молоке женщин, иммунизированных различными антигенами.

Liebling, Smitz (1943) иммунизировали группу беременных женщин с отрицательной реакцией Шика. В колоструме антитоксин был обнаружен только в низких титрах. Lemstauer, Nicol, Grasset, Ganthier, Pialoux (1950) обнаруживали столбнячный антитоксин в низких титрах в колоструме женщин, иммунизированных столбнячным анатоксином.

В связи с заболеваемостью новорожденных стафилококковой инфекцией мы проводили иммунизацию беременных очищенным адсорбированным анатоксином. Препарат серии II—I, содержащий 25 ЕС/мл, вводили по 0,5 мл подкожно однократно на 32-й неделе или двукратно на 32—36-й неделе беременности.

Поскольку в литературе мы не нашли данных о содержании альфа-антитоксина в колоструме и молоке иммунизированных стафилококковым анатоксином женщин, целью данного исследования явилось изучение этого вопроса.

В связи с необходимостью определения малых количеств антитоксина в молоке мы применяли постоянную минимальную гемолитическую дозу токсина с различными разведениями молока. В каждом опыте параллельно с разведениями проб молока ставили в отдельном ряду разведения 1 АЕ стандартной антитоксической сыворотки.

Всего было исследовано 438 проб женского молока, взятых с первого по 14-й день после родов от 198 кормящих матерей. При этом 231 проба была от непривитых матерей, 84 — от однократно привитых и 123 пробы — от двукратно привитых стафилококковым анатоксином матерей. У 91 женщины пробы молока бра-

Таблица 1

Содержание стафилококкового альфа-антитоксина в молоке непривитых матерей

День обследования после родов	Количество проб						
	Всего	Не содержащих антитоксина	содержащих антитоксин в титрах				
			Всего	1:5	1:10	1:20	1:40
1—2-й	17	2	15	—	2	5	8
3—4-й	73	21	52	3	8	25	16
5—6-й	67	23	44	8	17	15	—
7—8-й	47	24	23	4	13	6	—
9—10-й	18	9	9	2	6	1	—
11—14-й	9	5	4	1	2	1	—
Итого	231	84	147	18	48	53	28

$P < 0,05$

лись по одному разу, у 36 — по два, у 33 — по три и у 38 — более трех раз.

Данные о содержании альфа-антитоксина в молоке непривитых матерей представлены в табл. 1.

Как видно из данных табл. 1, в 15 из 17 проб альфа-антитоксин был обнаружен на 1-й и 2-й дни после родов. На 3—4-й день он выявлен в 52 из 75, на 5—6-й день — в 44 из 67 проб. В дальнейшем количество положительных проб резко снижается. При этом в течение первых 2 недель уменьшается не только процент проб молока, содержащих альфа-антитоксин, но и титр последнего.

Таблица 2

Содержание альфа-антитоксина в молоке матерей, однократно привитых очищенным адсорбированным стафилококковым анатоксином

День обследования после родов	Количество проб								
	всего	не содержащих антитоксина	содержащих антитоксин, титры						
			всего	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160
1—2-й	7	1	6	—	—	1	2	3	—
3—4-й	22	2	20	—	1	5	9	4	41
5—6-й	25	4	21	—	3	7	10	1	—
7—8-й	21	8	13	5	3	5	—	—	—
9—10-й	7	3	4	2	—	2	—	—	—
11—14-й	2	—	—	—	—	—	—	—	—
Итого	84	18	64	7	7	20	21	8	1

$P < 0,05$

Таблица 3

Содержание альфа-антитоксина в молоке матерей, двукратно привитых очищенным адсорбированным стафилококковым анатоксином

День обследования после родов	Количество проб								
	всего	не содержащих антитоксина	содержащих антитоксин, в титрах						
			всего	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160
1—2-й	7	—	7	—	—	2	2	—	3
3—4-й	31	—	31	1	2	2	7	13	6
5—6-й	36	6	30	3	5	5	13	3	1
7—8-й	33	10	23	2	3	7	10	1	—
9—10-й	9	3	6	—	1	—	5	—	—
11—14-й	7	3	4	2	—	1	1	—	—
Итого	123	22	101	8	11	17	38	17	10

$P < 0.05$

Динамика и уровень антител в молоке женщин, привитых стафилококковым анатоксином, и непривитых (табл. 2 и 3) в значительной степени отличаются от данных табл. 1.

Сопоставление данных о содержании антител в молоке матерей, непривитых и привитых одно- и двукратно, показывает, что антитела обнаруживались в пробах материнского молока во все сроки обследования, однако у однократно и, особенно, у двукратно привитых в титрах более высоких, чем у непривитых.

Из 157 проб молока, взятых у непривитых матерей, до 6-го дня количество положительных проб в разведении 1:40 составило 28 (17,9%). Соответственно из числа проб, взятых у 52 привитых однократно, положительная реакция 1:40 и выше получена у 30 (57,3%). Из привитых двукратно 74 женщины положительная реакция указанных титров получена у 48 (64,8%).

Таким образом, результаты проведенных исследований позволили установить, что в молоке большинства родильниц в первые дни после родов имеются антитела, нейтрализующие стафилококковый альфа-антитоксин. Однако активная иммунизация беременных очищенным адсорбированным стафилококковым анатоксином способствует не только значительному повышению частоты и длительности его обнаружения.

## Влияние конкуренции антигенов и вида пассивно введенных антител на эффективность пассивно-активной иммунизации против бешенства

*И. Н. Моргунов, Н. И. Лисяный. Киев*

Применение антирабического гамма-глобулина в сочетании с курсом прививок антирабической вакциной обеспечивало более высокую степень защиты лиц, подвергшихся заражению, чем иммунизация их одной только вакциной (Baltazard, Godjisi, 1954; Gavřila и др., 1958; М. А. Селимов, Л. Г. Болтуцкий, Е. В. Семенова, 1959; М. А. Селимов, 1963, и др.). Baltazard, Bahmanуat, Sobeti (1959) применили гипериммунную антирабическую сыворотку в комбинации с вакциной у 64 укушенных бешеными волками и добились полной защиты лиц, укушенных в верхние конечности, тогда как среди 44 таких же пострадавших, иммунизированных только вакциной, заболеваемость гидрофобией составила 18%.

Однако пассивно-активная иммунизация против бешенства не всегда обеспечивает полную защиту пострадавших, даже при условии своевременного начатых прививок. Например, М. А. Селимов (1963) описывает несколько случаев заболевания бешенством с продолжительным инкубационным периодом после полного курса пассивно-активной иммунизации. Среди причин неудач применения комбинированной иммунизации главной считают подавление поствакцинального иммунитета пассивно введенными антителами.

Это явление получило название интерференции (Atanasiu и др., 1956). Интенсивность интерференции зависит от иммуногенности вакцины, длительности курса иммунизации, дозы и кратности введения антирабической сыворотки (Atanasiu и др., 1956; Fox и др., 1957; М. А. Селимов, 1963; Е. Н. Нагоренко, 1963).

Явление угнетения иммунного ответа при пассивно-активной иммунизации наблюдалось не только при профилактике бешенства, но и при иммунизации против дифтерии, кори, оспы, сибирской язвы и других инфекций.

В литературе мы не нашли работ, посвященных изучению механизма интерференции, наблюдаемой при серовакцинации против бешенства. Исходя из общих представлений о природе иммунологических реакций, можно предположить существование двух механизмов интерференции. Первый можно условно назвать «неспецифическим», понимая под этим иммунологическую конкуренцию между антигенами антирабической вакцины, с одной стороны, и чужеродным антирабическим гамма-глобулином как антигеном, — с другой; второй — «специфический механизм» — взаимодействие

между антигенами вакцины и пассивно введенными антирабическими антителами гамма-глобулина.

Нашей задачей явилось изучение роли в интерференции «неспецифического механизма» и интерферентного действия гомологичных и гетерологичных пассивно введенных антител.

Работа выполнена на белых беспородных крысах весом 180—200 г. В опытах использовали антирабическую вакцину типа Ферми и антирабический гамма-глобулин, полученные из Харьковского завода бакпрепаратов. Гомологичную антирабическую сыворотку получали путем длительной иммунизации крыс антирабической вакциной. Нормальный лошадиный гамма-глобулин выделяли спиртовым осаждением по методу Зильбера и Абелева.

Титр антирабических антител в сыворотке крови подопытных животных выявляли с помощью РСК с культуральным фиксированным вирусом бешенства.

Титр антигамма-глобулиновых антител определяли в реакции пассивной геагглютинации по методу Бойдена.

Результаты исследований подвергались статистической обработке с определением достоверности найденных различий (И. П. Ашмарин, А. А. Воробьев, 1962).

В первой серии опытов (4 группы животных) изучалось значение конкуренции антигенов между чужеродным антирабическим гамма-глобулином и антигенами вакцины как причины подавления поствакцинального синтеза антител. Животных 1-й группы (7 крыс) иммунизировали только вакциной по 0,2 мл подкожно в область живота, животных 2-й (8 крыс) — иммунизировали 0,3 мл антирабического гамма-глобулина (42 мг белка), 3-й (7 крыс) — таким же количеством нормального лошадиного гамма-глобулина (42 мг белка). Животных 2-й и 3-й групп через 24 часа после пассивной иммунизации вакцинировали как животных 1-й. Животных 4-й иммунизировали только пассивно 0,3 мл антирабического гамма-глобулина.

У животных первых трех групп брали кровь из сердца на 14, 26, 35 и 48-е сутки от начала прививок и определяли титр антирабических антител. Результаты этих исследований представлены в табл. 1, из которой видно, что после восьмидневного курса прививок вакциной антитела в крови животных 1-й группы определялись начиная с 14-х суток в течение всего срока наблюдений. Максимальный уровень антител был отмечен на 25-е сутки.

Введение антирабического гамма-глобулина (2-я группа) тормозило поствакцинальный синтез антител; только на 35-е сутки антитела определялись в сыворотке крови у всех животных в титре 1:86,5, в дальнейшем уровень антител уменьшался.

У животных 3-й группы, получавших нормальный лошадиный гамма-глобулин и курс прививок вакциной Ферми, антитела обнаруживались во все сроки наблюдений, причем уровень их был ниже, чем у животных 1-й группы.

Таким образом, при пассивно-активной иммунизации против бешенства наблюдается подавление поствакцинального синтеза антител антирабическим гамма-глобулином. Одной из причин интерференции в наших опытах могла быть чужеродность антирабического гамма-глобулина. Но как видно из табл. 1, подавление

Таблица 1

Результаты исследования влияния конкуренции антигенов на уровень антирабических антител в сыворотке крови крыс

Группа животных	Срок после иммунизации, сутки	Уровень антител	
		Среднегеометрический титр	Доверительный интервал
1-я	14	1 : 15	1 : 11 — 1 : 21
	26	1 : 53,9	1 : 24,4 — 1 : 117,6
	35	1 : 25	1 : 12 — 1 : 50
	48	1 : 8	1 : 6 — 1 : 12
2-я	14	1 : 6	—
	26	1 : 3	—
	35	1 : 20	1 : 12 — 1 : 35
	48	1 : 5	—
3-я	14	1 : 9	—
	26	1 : 16	1 : 11 — 1 : 22
	35	1 : 21	1 : 15 — 1 : 32
	48	1 : 7	—

синтеза антител, вызванное специфическим гамма-глобулином, более выражено, чем подавление, вызванное нормальным гамма-глобулином, а, следовательно, конкуренцией антигенов нельзя полностью объяснить это явление.

Конкуренция антигенов как неспецифическая причина интерференции подавляла не только синтез антирабических антител, но и синтез антигамма-глобулиновых антител. Особенно это заметно на 26-е сутки от начала иммунизации. Результаты исследования сыворотки крови крыс 2-й, 3-й и 4-й групп приведены в табл. 2.

Антирабическая вакцинация угнетала иммунный ответ на антигены чужеродного гамма-глобулина. Титры антигамма-глобулиновых антител у животных этой группы были в 5 раз ниже по сравнению с уровнем антител у животных, пассивно иммунизированных

ных. Антирабическая вакцина в одинаковой степени подавляла синтез антигамма-глобулиновых антител как на антигены специфического, так и неспецифического гамма-глобулина (нормального).

Целью второй серии опытов было сравнительное исследование инттерферентного действия антирабического чужеродного гамма-глобулина и гомологичной антирабической сыворотки, при иммунизации которой практически полностью исключается конкуренция антигенов. Исследовалось также влияние вакцинации на уровень пассивных антител в крови животных, иммунизированных гомологичной антирабической сывороткой.

В опыт были взяты четыре группы крыс. Животных первой группы иммунизировали только вакциной по 0,2 мл подкожно в течение 10 суток. Крысы второй группы получали по 0,9 мл гомологичной антирабической сыворотки и спустя 24 часа — курс вакцинации, как первая группа. Третью группу животных иммунизировали по 0,3 мл чужеродного антирабического гамма-глобулина и затем вакциной, как предыдущие группы. Четвертую группу (крыс) иммунизировали только гомологичной антирабической сывороткой в объеме 0,9 мл. Титр гомологичной антирабической сыворотки был равен 1:1280.

Титр антител в сыворотке крови животных определяли на 22, 34, и 48-е сутки. Результаты этих исследований представлены в табл. 3.

Гомологичная антирабическая сыворотка подавляла иммунный ответ практически в течение всего срока наблюдения, тогда как чужеродный антирабический гамма-глобулин угнетал синтез антител только в сравнительно ранние сроки после прививок. Так, на 22-е сутки от момента иммунизации антитела в очень низком титре определялись в сыворотке крови отдельных животных 2-й и 3-й групп, а у большинства из них отсутствовали, тогда как при иммунизации только вакциной (1-я группа) антитела регистрировались у всех животных. У животных 1-й группы титр антител достигал максимума на 34-е сутки. У крыс, иммунизированных чужеродным гамма-глобулином и вакциной, среднегеометрический титр антител был выше, чем у животных, получивших гомологичную антирабическую сыворотку и курс вакцинации, и ниже, чем у животных, привитых только вакциной.

Таблица 2

Результаты исследования влияния конкуренции антигенов на уровень антигамма-глобулиновых антител в сыворотке крови крыс (на 26-е сутки после иммунизации)

Группа животных	Уровень антител	
	Среднегеометрический титр	Доверительный интервал
2-я	1 : 98	1 : 50 — 1 : 160
3-я	1 : 100	1 : 61 — 1 : 142
4-я	1 : 508	1 : 990 — 1 : 312

На 35-е сутки наблюдались статистически достоверные различия между титром антител у животных, иммунизированных гомологичной сывороткой и вакциной, и титром антител у крыс, иммунизированных чужеродным гамма-глобулином и вакциной. Различие между титром антител у животных, получивших только

Таблица 3  
 Результаты исследования интерферентного влияния антирабического гамма-глобулина и гомологичной антирабической сыворотки при иммунизации крыс

Группа животных	Срок после иммунизации, сутки	Уровень антител	
		Среднегеометрический титр	Доверительный интервал
1-я	22	1 : 12,0	1 : 8 — 1 : 23
	34	1 : 86,5	1 : 45 — 1 : 172
	48	1 : 9,0	—
2-я	22	1 : 6,0	—
	34	1 : 13,0	1 : 9 — 1 : 23
	48	1 : 8,0	—
3-я	22	1 : 3,0	—
	34	1 : 49,0	1 : 27 — 1 : 100
	48	1 : 7,0	—

курс вакцинации, и титром антител при иммунизации чужеродным гамма-глобулином и вакциной было статистически не достоверно.

Таким образом проведенное исследование позволяет сделать следующие выводы. Во-первых, конкуренция антигенов не являет-

Таблица 4  
 Динамика циркуляции пассивно введенных гомологических антител в сыворотке крови крыс

Группа животных	Срок после иммунизации, сутки	Уровень антител	
		Среднегеометрический титр	Доверительный интервал
2-я	3	1 : 113,0	1 : 198 — 1 : 70
	8	1 : 28,0	1 : 50 — 1 : 17
	22	1 : 6,0	—
4-я	3	1 : 282,0	1 : 588 — 1 : 143
	8	1 : 113,5	1 : 274 — 1 : 54
	13	1 : 28,0	1 : 18,8 — 1 : 43,5
	22	1 : 5,0	—

ся основной причиной интерференции и, во-вторых, гомологичная антирабическая сыворотка угнетает иммунный ответ более интенсивно, чем чужеродная. Ревакцинация животных через 50 дней после начала прививок антирабической вакциной вызывала иммунный ответ по вторичному типу независимо от степени подавления иммунного ответа при первичной вакцинации; титр антител в сыворотке крови крыс не имел статистически достоверных различий.

Для изучения влияния вакцинации на длительность циркуляции пассивно введенных антител в крови мы исследовали сыворотку крови животных 2-й и 4-й групп на 3, 8, 13 и 22-е сутки. Полученные результаты приведены в табл. 4. Как видно из табл. 4, пассивно введенные антитела циркулируют в крови в течение 20—22 дней. Максимальный титр антител наблюдался на 3-и сутки.

У животных, получивших гомологичную сыворотку и курс прививок, антитела определялись только на 3-и и 8-е сутки, причем уровень антител в эти сроки был ниже, чем у животных, иммунизированных только пассивно.

Ускоренное выведение пассивных антител из кровотока можно объяснить тем, что антитела могут связывать антигены вакцины, а также ускоренной элиминацией комплекса антиген — антитело из кровотока, что приводит к уменьшению антигенного раздражения организма вакциной. Такое объяснение согласуется с известными данными (Talmage et al., 1951; Weigle, 1958) и подтверждается представленными выше результатами изучения конкуренции антигенов. Так, антирабическая вакцина одинаково подавляла иммунный ответ на антигены нормального и антирабического гамма-глобулина, тогда как эти гамма-глобулины в различной степени угнетали синтез поствакцинальных антирабических антител.

На основании проведенных исследований можно сделать общее заключение, что подавление активного синтеза антител обусловлено конкуренцией между антигенами вакцины и гамма-глобулина как антигена и нейтрализацией антигенов вакцины пассивно введенными антителами, которая приводит к ослаблению антигенного раздражения организма вакциной.

### **Действие осповакцины на хромосомный аппарат клетки**

*А. К. Фролов, А. А. Сохин, В. К. Фролов. Донецк*

Мутагенное действие вирусов доказано многими исследователями (Nichols и др., 1962; С. М. Гершензон, С. С. Малюта, 1967; Г. Р. Михайлова, 1967, и др.). В связи с широким распространением

предохранительных прививок против ряда вирусных заболеваний вопрос о мутагенной безопасности применяемых вакцин становится весьма актуальным.

Имеются указания, что вакцинные штаммы вирусов вызывают повреждение хромосом (Nichols, 1963; Г. Р. Михайлов и др., 1970; Г. И. Бужиевская, Л. М. Чудная, 1971, и др.). Широкое проведение осповакцинации вызывает необходимость изучить мутагенное действие этого прививочного препарата.

Литературные сведения по данному вопросу единичны и противоречивы. Одни исследователи не выявили повреждающего действия вируса осповакцины, другие это действие на хромосомы находили, хотя и не постоянно. Представляет интерес и мутагенное действие осповакцины при повторной ревакцинации у лиц с давним сроком первичной вакцинации. Подобных сведений в литературе мы не обнаружили.

Нами была исследована кровь 12 ревакцинированных людей в возрасте 24—30 лет. Для получения препаратов хромосом кровь культивировалась по синтетической схеме полумикрометода.

Образцы крови брались до ревакцинации (они служили контролем) и через 8—9 дней после нее у тех же лиц. Вакцинация проводилась в соответствии с инструкцией. У привитых учитывалась кожная реакция и в парных сыворотках с помощью РТГА определялись антитела. Отбор метафаз для хромосомного анализа проводили по методу Бочкова с соавт. (1966).

При анализе метафаз учитывали плоидность, анеуплоидию, нарушение структур хромосом. Метафазы с количеством хромосом меньше 45 исключались из анализа, просветы в хромосомах также не учитывались. Ассоциации хромосом акроцентриков учитывали в клетках с 46 хромосомами. За ассоциацию принимали такое расположение акроцентрических хромосом, когда они ориентированы короткими плечами друг к другу и расстояние между ними не превышает половины длины наибольшей из хромосом группы 13—15 (А. А. Прокофьева-Бельговская и др., 1966). Ассоциацией считали также параллельное расположение акроцентрических хромосом, центромера которых расположена на одном уровне, при этом ассоциация из 2, 3 и более хромосом могла иметь вид полукруга или могла быть вытянутой в линию.

Количественные и структурные aberrации хромосом исследовались в 480 метафазах до вакцинации и 477 после вакцинации у тех же лиц.

Анализ полученных данных (табл. 1) показал, что метафазы после вакцинации не отличаются достоверно от контроля. Так, анеуплоидия на 8—9-й день после вакцинации составляла  $6,1\% \pm 0,74$  при  $5,0\% \pm 0,62$  до вакцинации ( $P > 0,05$ ). Процент клеток

с хромосомными аномалиями до и после вакцинации также не имел во всех случаях достоверных различий в опыте и в контроле ( $P > 0,05$ ).

При изучении вакцинального процесса (табл. 2) было установлено, что прививка обуславливала в основном кожные реакции немедленного типа, в крови обследованных имелись антигемагглютинины в титрах от 1:5 до 1:20.

Ассоциации акроцентрических хромосом были изучены в 440 метафазах до и в 472 после прививки (табл. 3).

Из табл. 3 видно, что количество клеток, содержащих ассоциации, уменьшилось после ревакцинации ( $91,8 \pm 1,3$  и  $88,1 \pm 1,6$  соответственно), но не достоверно. Среднее количество ассоциаций на клетку достоверно уменьшалось после прививки ( $1,75 \pm 0,03$  и  $1,56 \pm 0,03$  соответственно).

Среднее число ассоциаций в клетке после прививки (табл. 4) сократилось за счет клеток с двумя ассоциациями ( $51,4 \pm 2,4$  и  $42,2 \pm 2,3$  соответственно,  $P < 0,01$ ), а также клеток с тремя и четырьмя ассоциациями, однако последняя тенденция не достоверна ( $P > 0,05$ ). После прививки наблюдалось увеличение количества клеток с двумя ассоциациями ( $26,4 \pm 2,1$  и  $33,7 \pm 2,3$  соответственно,  $P < 0,05$ ).

Анализ частоты ассоциаций с различным количеством акроцентрических хромосом (табл. 5) показал, что хотя уменьшение количества ассоциаций с тремя, четырьмя и пятью хромосомами после прививки не достоверно в отдельности, однако в сумме по этим группам уменьшение статистически значимо ( $30,2\% \pm 1,7$  до и  $25,9\% \pm 1,6$  после прививки,  $P < 0,05$ ). Увеличилось после прививки число

Таблица 1

Частота aberrаций хромосом в лейкоцитах человека после ревакцинации

Время исследования	Количество исследованных метафаз	Анеуплоидия, %	Количество аномальных метафаз							
			Всего		С разрывами хромосом		Эндоредупликация		Триплондия	
			абс.	в %	абс.	в %	абс.	в %	абс.	в %
До ревакцинации	480	$5,0 \pm 0,62$	11	$2,29 \pm 0,69$	5	$1,04 \pm 0,22$	6	$1,25 \pm 0,49$	—	—
	477	$6,1 \pm 0,74$	12	$2,51 \pm 0,72$	8	$1,68 \pm 0,37$	3	$0,62 \pm 0,36$	1	0,2

Таблица 2

Динамика титра антител и характеристика кожной реакции у ревакцинированных оспенной вакциной

Характер кожной реакции	Титры антител	
	до ревакцинации	после ревакцинации
Немедленная	10	5
»	20	20
»	5	20
»	5	5
»	10	20
»	5	20
»	0	10
»	5	5
Ускоренная	0	5
»	0	5
Немедленная	40	20
»	5	10

Примечание. Предшествующая прививка — в детстве.

при действии осповакцины на лейкоциты человека при повторной ревакцинации. Уровень анеуплоидии и хромосомных aberrаций соответствует их спонтанной частоте. Наши данные подтверждают результаты Шулера с соавт. (1968), которые также изучали изменения хромосом в культуре лейкоцитов при оспопрививках у грудных детей.

По данным литературы, хромосомные aberrации выявлены в культуре клеток L (Hansen и др., 1966; А. А. Прокофьева-Бель-

ассоциаций с двумя хромосомами ( $69,9 \pm 1,7$  и  $73,3 \pm 1,6$  соответственно,  $P < 0,05$ ).

Данные табл. 6 показали, что увеличение частоты ассоциаций, образованных двумя акроцентрическими хромосомами (табл. 5), после прививки происходило за счет ассоциаций типа DG ( $35,9\% \pm 1,7$  и  $42,1 \pm 1,8$  соответственно,  $P < 0,05$ ), а уменьшение числа ассоциаций с тремя, четырьмя и пятью хромосомами (в сумме) — за счет других основных типов ассоциаций. Суммарные данные остальных типов ассоциаций, приведенных в табл. 6, кроме DG, составляют  $60,9\% \pm 1,7$  до и  $53,8\% \pm 1,8$  после вакцинации ( $P < 0,05$ ).

Таким образом, проведенное исследование не выявило изменения количества и структуры хромосом

и структуры хромосом

Таблица 3

Характеристика ассоциаций акроцентрических хромосом в культуре лейкоцитов

Время исследования	Количество клеток		Среднее количество	
	всего	с ассоциациями	ассоциаций на клетку	хромосом в одной ассоциации
До ревакцинации	440	$91,8 \pm 1,3$	$1,75 \pm 0,03$	$2,39 \pm 0,03$
После ревакцинации	472	$88,1 \pm 1,6$ $P > 0,05$	$1,56 \pm 0,03$ $P > 0,01$	$2,37 \pm 0,03$ $P > 0,05$

Частота клеток с различным числом ассоциаций акроцентрических хромосом (в %)

Таблица 4

Время исследования	Количество клеток	Количество ассоциаций в клетке				
		0	1	2	3	4
До ревакцинации	440	8,2±1,3	26,4±2,1	51,4±2,4	13,9±1,7	0,5±0,3
После ревакцинации Р	472	11,9±1,5 >0,05	33,7±2,3 <0,05	42,2±2,3 <0,01	11,7±1,5 >0,05	0,6±0,4 >0,05

говская и др., 1966), в культуре эмбриональных фибробластов (И. С. Жданова и др., 1970) и у мышей (Г. Р. Михайлова и др., 1970). Отсутствие подобного действия в опытах с культурой лейкоцитов привитых можно объяснить меньшей их чувствительностью к вирусу, а также наличием специфических антител у обследованных нами лиц и у грудных детей (материнские антитела), которые инактивируют вирусные частицы.

Обнаружено уменьшение среднего количества ассоциаций акроцентрических хромосом на клетку после ревакцинации.

Изучение спектра ассоциаций показало уменьшение количества клеток с двумя, тремя и четырьмя ассоциациями и увеличение количества клеток с одной ассоциацией. Выявлено также уменьшение частоты ассоциаций, образованных тремя, четырьмя и пятью хромосомами, при относительном увеличении числа ассоциаций с двумя хромосомами. Обнаруженные изменения количества и структуры ассоциаций акроцентрических хромосом можно объяснить нарушением образования и распада ассоциаций с большим количеством хромосом под действием вируса осповакцины. Как следствие этого накапливаются ассоциации типа DG, конъюгация которых наиболее прочна.

Таблица 5

Частота ассоциаций, образованных различным числом ассоциирующих хромосом (в %)

Время исследования	Количество ассоциаций	Количество хромосом в ассоциации					
		2	3	4	5	6	7
До ревакцинации	764	69,0±1,7	22,6±1,5	5,9±0,8	1,6±0,5	0,3±0,2	0,1±0,1
После ревакцинации	734	73,3±1,3 <0,05	19,9±1,5 >0,05	4,8±0,9 >0,05	1,2±0,4 >0,05	0,5±0,3 >0,05	0,3±0,2 >0,05

Типы ассоциаций по групповой принадлежности ассоциирующих хромосом (в % от общего количества ассоциаций)

Тип ассоциаций	Количество ассоциаций		Р	Тип ассоциаций	Количество ассоциаций		Р
	в опыте	в контроле			в опыте	в контроле	
DD	21,9±1,5	23,6±1,6	>0,05	GGG	1,1±0,4	1,4±0,4	>0,05
DG	42,1±1,8	35,9±1,7	<0,05	DDDG	2,0±0,5	2,7±0,6	>0,05
GG	9,7±1,1	10,3±1,1	>0,05	DDGG	2,0±0,5	2,2±0,5	>0,05
DDD	2,7±0,3	2,2±0,5	>0,05	DGGG	0,5±0,3	0,9±0,3	>0,05
DDG	10,8±1,1	12,2±1,2	>0,05	DDDDG	0,8±0,3	1,0±0,4	>0,05
DGG	4,8±0,8	6,0±0,9	>0,05	DDGGG	0,1±0,1	0,4±0,2	>0,05

Примечание. Редко встречающиеся типы ассоциаций не приведены. Общее количество ассоциаций см. в табл. 5.

Короткие плечи акроцентрических хромосом, образующих ассоциации, целиком состоят из гетерохроматина и в них находятся ядрышковые организаторы. Гетерохроматиновые районы коротких плеч акроцентрических хромосом, конъюгируя между собой, образуют в интерфазном ядре общее ядрышко, где синтезируется р-РНК. Способность гетерохроматических районов коротких плеч акроцентрических хромосом к конъюгации, а, следовательно, и к ассоциации, уменьшается при увеличении асинхронности спирализации и степени спирализации хромосом (А. А. Прокофьева-Бельговская, 1966).

Можно предположить, что вирус осповакцины, изменяя процесс спирализации хромосом, ведет к уменьшению ассоциаций акроцентрических хромосом, нарушению формирования общего ядрышка и синтеза р-РНК. Подобное предположение может объяснить один из механизмов нарушения метаболизма и пролиферации клеток под действием вирусов.

Полученные нами данные позволяют сделать вывод, что при изучении мутагенной безопасности живых вирусных вакцин следует обращать внимание не только на изучение хромосомных aberrаций, но и на изучение ассоциаций акроцентрических хромосом как показателя функционального состояния хромосом.

## Изучение эпидемиологической эффективности живой гриппозной пероральной вакцины

*Н. В. Романов, Б. Я. Альтерман, К. Н. Архипова, А. А. Беккер, А. А. Лапида, В. С. Мамай, Г. А. Няга, Н. Н. Романова, Л. Е. Шубенко. Львов*

Специфическая профилактика занимает важное место в системе мероприятий по борьбе с гриппом. Изготавливаемая до настоящего времени живая гриппозная вакцина для интраназального введения применяется в Советском Союзе более 30 лет. Установлено, что она обладает определенной эпидемиологической эффективностью. Однако ее нельзя применять для вакцинации детей младшего школьного и дошкольного возраста в связи с высокой реактогенностью и нестандартным эффектом иммунизации, связанным с трудностью точного дозирования препарата при существующей его аппликации.

Предложенная Московским научно-исследовательским институтом вирусных препаратов новая живая тканевая гриппозная вакцина для перорального применения не имеет указанных недостатков. Результаты экспериментов, проведенных на животных, и исследований на добровольцах (А. К. Алексеева, Л. А. Яковлева, И. Н. Васильева, О. Г. Анджапаридзе, 1968; И. Н. Васильева, 1970) показали, что пероральное введение полученных вариантов вируса гриппа мышам в первые дни индуцирует выработку интерферона и создает неспецифическую резистентность. В более поздние сроки наступает фаза специфического иммунитета, характеризующаяся высокой резистентностью мышей к заражению патогенным вирусом гриппа. В опытах на добровольцах введение живой пероральной гриппозной вакцины не вызывало каких-либо побочных реакций. Пероральная вакцинация как взрослых, так и детей разного возраста сопровождалась продукцией специфических антител и развитием резистентности к гриппозной инфекции. Результаты проведенных исследований позволили авторам рекомендовать вакцину для проверки в широком эпидемиологическом опыте.

В настоящей работе представлены данные, полученные при изучении эпидемиологической эффективности живой гриппозной пероральной вакцины МНИИВП в период с октября 1968 по март 1970 г.

Вакцинация была проведена в 21 коллективе, в три срока по разным схемам и в различной эпидемиологической обстановке. Под наблюдением находились 8692 привитых и 8471 непривитых (контрольная группа). Контрольную группу составили лица, работающие в различных цехах, отделах предприятий и учреждений.

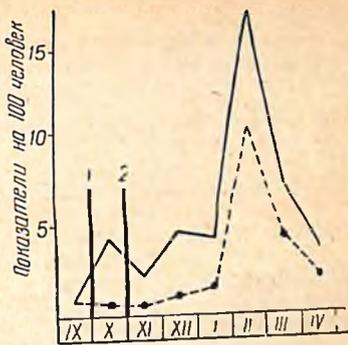
Учащиеся параллельных классов школ и соответствующие детские коллективы, где прививки не проводились, также были включены в контрольную группу. Заболеваемость начинали учитывать через сутки после первого введения вакцины. Учет заболеваемости по группам вакцинированных и невакцинированных проводили по больничным листкам, а в детских коллективах — по журналу регистрации инфекционных заболеваний. Эффективность вакцинации оценивали по сумме показателей заболеваемости гриппом и острыми респираторными инфекциями.

Реактогенность вакцины в различных возрастных группах характеризовалась следующими данными. У 23 детей после приема вакцины возникли кратковременное повышение температуры до  $37,1-37,3^{\circ}$ , тошнота, общая слабость, головная боль и т. д. Аналогичные явления, но без повышения температуры были отмечены у 52 взрослых после приема вакцины. Через сутки после прививки заболело 2 человека с потерей трудоспособности в течение 3 дней (температура  $37,7^{\circ}$ , общая слабость, головная боль, катаральные явления). У 1 привитого наблюдалась аллергическая реакция в виде крапивницы, продолжавшейся в течение суток после приема вакцины при нормальной температуре. Таким образом, живая гриппозная пероральная вакцина, изготовленная из старого и нового штаммов вируса гриппа, является практически ареактогенным препаратом как для взрослых, так и для детей в возрасте от 3 до 16 лет.

Во время проведения опытов по изучению эпидемиологической эффективности пероральной вакцины эпидемиологическая ситуация по гриппу была различной. Так, в течение 1968 г. заболеваемость гриппом и острыми респираторными инфекциями находилась на уровне межэпидемического периода с небольшим подъемом в осенне-зимний период и носила преимущественно спорадический характер. В конце января 1969 г. возникла эпидемия гриппа, которая достигла максимального развития в феврале, превысив летний ординар в 9 с лишним раз. В апреле заболеваемость снизилась до исходного уровня и до конца года носила спорадический характер с небольшим осенне-зимним подъемом. В конце января 1970 г. вновь возникла эпидемия гриппа, достигшая максимума в феврале, когда она превысила летний ординар в 12,4 раза. В марте заболеваемость значительно снизилась, но исходного уровня достигла только в мае.

В этиологической структуре гриппа и острых респираторных заболеваний также наблюдались значительные изменения. В период с октября по декабрь 1968 г. в этиологической структуре острых респираторных заболеваний грипп составил 20,8%, парагрипп — 8,9%, аденовирусная инфекция — 25,9% и смешанная

инфекция (парагрипп и аденовирусы) — 3,9%. Этиология гриппа была обусловлена вирусами А<sub>2</sub> и В при некотором преобладании вируса А<sub>2</sub>. В период эпидемии гриппа в январе—марте 1969 г. диагноз гриппа был подтвержден в 71,0%, парагриппа — в 7,4%, аденовирусной — в 5,7% и смешанной инфекции (парагрипп и аденовирусы) — в 2,2% случаев. Во время эпидемии в январе — марте 1970 г. диагноз гриппа был подтвержден в 70,4%, парагриппа — в 4,7%, аденовирусной — в 12,8% и смешанной инфекции — в 6,0% случаев. Результаты серологических исследований показали, что эпидемии гриппа в 1969 и 1970 гг. были вызваны вирусом гриппа А<sub>2</sub> Гонконг.



Динамика заболеваемости гриппом и ОРЗ невакцинированных (сплошная линия) и вакцинированных (пунктир):  
1 — первая прививка; 2 — вторая прививка.

Таким образом, антигенный состав вакцины, применявшейся для вакцинации во время эпидемий гриппа в 1969 и 1970 г., соответствовал антигенной структуре возбудителя эпидемии, а антигенный состав вакцины, применявшейся для прививок в октябре — ноябре 1968 г., не имел полного соответствия с антигенной структурой возбудителя эпидемии в 1969 г. Кроме того, в общей структуре острых респираторных заболеваний удельный вес парагриппа и аденовирусной инфекции составлял в предэпидемическом периоде 38,7%, а во время эпидемии гриппа в 1969 и 1970 г. — соответственно 15,3 и 23,5%.

В предэпидемическом периоде, в октябре — ноябре 1968 г., прививки были проведены на двух промышленных предприятиях, в двух медицинских учреждениях, в трех школах-интернатах и в двух детских садах. Дивакциной А<sub>2</sub>В серии 1, 6 и 75 было привито 5518 человек, из них 3394 взрослых, 1660 школьников и 464 дошкольника. Вакцину вводили через рот двукратно с интервалом в 30 дней по 0,5 мл детям от 3 до 7 лет и по 1,0 мл детям старше 7 лет и взрослым (схема вакцинации предложена авторами вакцины). Результаты вакцинации по возрастным группам за весь период наблюдения приведены в табл. 1.

Разница между показателями заболеваемости среди лиц контрольных групп и групп вакцинированных статистически достоверна (среди взрослых  $t=3,3$ , школьников  $t=5,0$ , дошкольников  $t=10,4$ ). Индекс эффективности вакцинации в возрастных группах колебался от 1,5 до 2,3, причем наиболее высоким (2,3) он был в

Таблица 1

Показатели эпидемиологической эффективности вакцинации дивакциной А<sub>2</sub>В в период с октября 1968 по март 1970 г.

Контингент находившихся под наблюдением	Группа	Количество заболевших, находившихся под наблюдением		
		всего	абс.	в %
Взрослые	Привитые	3394	758	22,3
	Непривитые	3655	1614	44,1
Школьники	Привитые	1660	471	28,3
	Непривитые	1601	662	41,3
Дошкольники	Привитые	464	95	20,5
	Непривитые	306	142	46,4

группе дошкольников, а самым низким (1,5) — в группе школьников. В среднем заболеваемость среди вакцинированных была в 1,8 раза ниже заболеваемости среди привитых.

Учитывая изменения в этиологии и эпидемиологии гриппа в период постановки эпидемиологического опыта, мы проследили за изменением эпидемиологической эффективности вакцинации среди рабочих на крупном промышленном предприятии — заводе автопогрузчиков. Были привиты против гриппа 2388 человек, и 3212 человек составили контрольную группу.

В течение всего предэпидемического периода (октябрь 1968 — январь 1969 г.) средний индекс эффективности составлял 4,1, причем снижение заболеваемости в группе вакцинированных наступило после первой прививки, когда еще не было завершено формирование специфического иммунитета. Это, по-видимому, было обусловлено эндогенным интерфероном, активным стимулятором образования которого является живая гриппозная пероральная вакцина. Сравнительно высокая эпидемиологическая эффективность вакцинации до конца предэпидемического периода указывает на высокие иммунологические свойства вакцины. Во время эпидемии гриппа в феврале — марте 1969 г. эффективность вакцинации снизилась до 1,7. Это снижение объясняется тем, что эпидемия была вызвана новой антигенной разновидностью вируса гриппа — вирусом А<sub>2</sub> Гонконг, антигенная структура которого не полностью соответствовала антигенному составу вакцины. Однако, несмотря на изменения в этиологической структуре гриппа, заболеваемость вакцинированных на заводе была в 2,2 раза ниже заболеваемости невакцинированных. Средняя продолжительность нетрудоспособности у привитых составляла 4,9 дня, а у непривитых — 5,9 дня.

Аналогичная динамика эпидемиологической эффективности вакцинации наблюдалась и в других коллективах, причем везде

была довольно высокая эффективность вакцинации в период с октября по декабрь 1968 г. Во время эпидемии в январе — марте 1969 г. снижение эффективности в этих коллективах было более значительным, чем на заводе автопогрузчиков.

В начале эпидемии гриппа в феврале 1969 г. были проведены прививки живой гриппозной пероральной вакциной А<sub>2</sub> Гонконг, серия 72, на одном промышленном предприятии и в шести медицинских учреждениях. Прививками было охвачено 2010 человек. В начале эпидемии гриппа в феврале 1970 г. живой гриппозной пероральной вакциной А<sub>2</sub> Гонконг, серия 28, были вакцинированы 1164 человека. Вакцину вводили через рот трехкратно с интервалом в 7 дней по 1,0 мл (по наставлению). Результаты вакцинопрофилактики приведены в табл. 2.

Разница между показателями заболеваемости среди лиц контрольных групп и групп вакцинированных статистически достоверна ( $t=4,1$  и  $4,7$  соответственно). Заболеваемость среди вакцинированных в период эпидемии 1969 г. была в 2,6 раза, а в период эпидемии в 1970 г. в 2,8 раза меньше, чем среди невакцинированных. Сократилась и длительность заболевания вакцинированных — соответственно на 1,25 и 0,86 дня по сравнению с продолжительностью заболевания невакцинированных.

Эффективность вакцинации отчетливо выявляется и при анализе других показателей. Отмечено выраженное влияние вакцинации на клиническое течение заболевания. У вакцинированных тяжелые и осложненные формы гриппа регистрировались в 1,5—1,9 раза реже, а легкие формы гриппа в 1,5—2,4 раза чаще, чем среди непривитых. В группах вакцинированных общее количество осложнений было в 1,3—2,1 раза меньше, а пневмонии регистрировались в 1,7 раза реже, чем в группах невакцинированных (табл. 3).

Таким образом, анализ результатов профилактики живой гриппозной пероральной вакциной, проведенной среди взрослых и детей в различной эпидемиологической обстановке, свидетельствует о значительной эффективности вакцины после первой прививки и в течение всего периода производства прививок. По окончании прививок эффективность вакцинации находится в прямой зави-

Таблица 2

Показатели эпидемиологической эффективности вакцинации пероральной гриппозной вакциной во время эпидемии гриппа в 1969 и 1970 г.

Группа обследованных	Количество лиц, находившихся под наблюдением		
	всего	абс.	в %
1969 г.			
Привитые	2010	222	11,0
Непривитые	1428	411	28,8
1970 г.			
Привитые	1164	146	12,6
Непривитые	1481	516	34,8

Таблица 3

Клиническая форма течения гриппа и осложнения у привитых и непривитых в разные периоды наблюдения (в %)

Период наблюдения	Группа	Течение заболевания			Количество осложнений	
		легкое	средней тяжести	тяжелое	всего	пневмония
Октябрь 1968— март 1970 г.	Привитые	71,5	25,1	3,4	2,0	—
	Непривитые	49,4	44,4	6,2	4,2	0,5
Февраль — март 1969 г.	Привитые	44,1	49,0	6,9	15,7	2,7
	Непривитые	24,9	64,3	10,8	23,7	4,6
Февраль — март 1970 г.	Привитые	67,2	27,9	4,9	17,1	2,4
	Непривитые	28,0	62,4	9,6	21,5	4,1

симости от степени соответствия антигенного состава вакцины антигенной структуре возбудителей гриппа, циркулирующих среди населения.

### Эффективность вакцинации ЖВС в одном из детских коллективов Харькова

*Т. Ф. Батуева, Р. Б. Иванова, Р. К. Никитина,  
А. И. Носатенко. Харьков*

В последние годы, как свидетельствуют литературные данные, в ряде районов Советского Союза, в том числе и в г. Харькове, имеет место снижение уровня коллективного иммунитета к полиомиелиту у детского населения (Б. Д. Швецкая, Б. З. Хотимская,

### Состояние иммунитета к полиомиелиту у детей в разные сроки после последней

Срок взятия сыворотки крови после последней прививки ЖВС, месяцы	Количество исследованных прививок				Количество сывороток, содержащих								
	всего	не содержащих антител к полиовирусу			I, II, III			I					
		абс.	в % ± m		абс.	в % ± m		t	абс.	в % ± m		t	
			абс.	в % ± m		t	абс.			в % ± m	t		
2—3	80	22	27,5	4,49	31	38,7	5,44	3,1	56	70,0	5,11		
4—8	97	49	50,5	5,07	3,1	18	18,5	3,93	3,1	44	45,3	5,06	3,4
9 и больше	35	16	45,7	8,42	0,5	6	17,1	6,18	0,2	19	54,3	8,42	0,9
Итого	212	87	41,0	3,37		55	25,9	3,0		119	56,1	3,4	

1963; М. П. Чумаков, 1967; В. И. Жевандрова, 1968; Б. Д. Швецкая, Л. Г. Грунговская, Г. И. Волчанецкая, А. И. Носатенко и др., 1969; Л. Г. Грунговская, 1970).

В связи с этим мы поставили перед собой задачу провести длительное наблюдение за состоянием иммунитета к полиомиелиту у детей одного из детских комбинатов города и попытаться выявить факторы, отрицательно влияющие на формирование иммунитета к полиовирусам.

Под наблюдением в течение двух лет находилось 62 ребенка в возрасте от одного года до пяти лет. Пробы сывороток крови и фекалий от этих детей собирали по два раза ежегодно — в мае и декабре. Всего в реакции нейтрализации на культуре клеток Нер-2 было исследовано в разведении от 1:8 до 1:512 212 сывороток крови на наличие антител к I, II и III типам полиовируса. Вирусологически на первично трипсинизированной кожно-мышечной ткани эмбриона человека и различных перевиваемых линиях клеток было исследовано 107 проб фекалий.

Результаты этих исследований представлены в табл. 1. Из них видно, что в первые 2—3 месяца после вакцинации в сыворотке крови детей антитела ко всем трем типам вируса полиомиелита определялись чаще, чем через 4—9 и более месяцев после последней иммунизации ЖВС (разница статистически достоверна, во всех случаях  $1 > 3,0$ ).

Напряженность иммунитета также была выше у детей, обследованных через 2—3 месяца после вакцинации (средние геометрические титров антител к I, II и III типам полиовируса составили соответственно 1:12; 1:5,7 и 1:4,6), чем у обследованных в более поздние сроки.

Таблица 1

прививки	антитела к полиовирусу типа									
	II					III				
	абс.	в % $\pm m$		t	Средние геометрические титров антител	абс.	в % $\pm m$		t	Средние геометрические титров антител
1:12	41	51,2	5,87		1:5,7	38	47,5	5,58		1:4,6
1: 4,9	24	24,7	4,26	3,1	1:2,3	23	23,7	4,31	3,3	1:2,0
1: 6,1	5	14,3	5,91	1,4	1:1,9	5	14,3	5,91	1,2	1:1,9
1:7,0	70	33,0	3,23		1:3,1	66	31,1	3,17		1:2,6

Состояние иммунитета к полиомелиту у детей в зависимости от числа предшествующих прививок

Количество прививок до обследования	Количество исследованных сывороток						Количество сывороток, содержащих антитела к полиовирусу типа								
	не содержащих антител к I, II, III типам			I, II, III			I			II			III		
	абс.	в %	P	абс.	в %	P	абс.	в %	P	абс.	в %	P	абс.	в %	P
4—10	41	42,7	>0,05	24	25,0	>0,05	50	52,1	>0,05	32	33,3	>0,05	33	34,3	>0,05
11—16	46	39,6		31	26,7		69	59,5		38	32,7		33	28,4	
	96														
	116														

Однако иммунологическое состояние в отношении трех типов полиовирусов у обследованных детей даже в ранние сроки после иммунизации нельзя считать удовлетворительным.

Кроме того, нас интересовало влияние различных прививок против детских инфекций, и в частности их кратность, на выработку специфического иммунитета против полиомиелита. Мы хотели проверить, не происходит ли истощение иммунизаторного аппарата у детей в результате многочисленных вакцинаций. Проанализировав с этой точки зрения имевшиеся в нашем распоряжении материалы, мы получили данные, представленные в табл. 2.

Из этих данных видно, что показатели иммунитета к полиомиелиту у детей, привитых 4—10 раз против различных инфекций, не отличались от тех же показателей у детей, получивших 11—16 прививок до момента обследования (статистическая обработка полученных данных по  $\chi^2$ -методу показала несущественность кажущихся различий, во всех случаях  $P > > 0,05$ ).

Таким образом, многочисленные прививки, по-видимому, не оказывают отрицательного влияния на выработку иммунитета к полиомиелиту. Однако материалы обеих таблиц свидетельствуют о недостаточно высоком уровне иммунитета к полиовирусам всех трех типов у обследованных детей, хотя прививки ЖВС проводились строго контролированно и своевременно.

Мы предположили, что отрицательное влияние на формирование специфического иммунитета к детскому параличу после вакцинации ЖВС могло оказать высокое носительство непо-

Таблица 3

Влияние носительства неполномиелитных ЦПА на выработку у детей гуморального иммунитета к полиомиелиту

Группа обследованных	Количество исследованных сывороток	Из них содержали антитела к полиовирусу типа								
		I			II			III		
		абс.	в %	P	абс.	в %	P	абс.	в %	P
Выделявшие ЦПА	23	13	56,6	>0,05	7	30,4	>0,05	5	21,7	>0,05
Не выделявшие ЦПА	84	51	60,7		34	40,5		35	41,7	
Итого	107	64	59,8		41	38,3		40	37,4	

лиомииелитных энтеровирусов детьми в наблюдавшемся коллективе. В литературе имеются многочисленные данные о возможной интерферирующей роли неполномиелитных энтеровирусов на вакцинные вирусы (И. И. Незнанская, 1965; Н. И. Некрашевич, Л. Н. Нестеренко, 1968; Н. А. Перельсон, 1968, и др.). Учитывая это, мы проанализировали результаты серологического обследования отдельно у детей, выделявших и не выделявших неполномиелитные патогенные агенты за 2 недели — 1 месяц до вакцинации. Полученные данные приведены в табл. 3.

При рассмотрении этих данных создается впечатление, что у детей, не выделявших неполномиелитные ЦПА, вируснейтрализующие антитела к I, II, III типам полиовируса определялись чаще, чем у детей, в кишечнике которых находились посторонние ЦПА. Однако статистическая обработка полученных данных показала, что различия эти несущественны ( $P > 0,05$ ). Следовательно, носительство ЦПА не отразилось заметным образом на развитии вакцинального процесса у наблюдавшихся детей.

На состояние иммунитета могли оказать влияние и заболевания, перенесенные в близкие к вакцинации сроки — за месяц до нес, во время и через 2 недели после прививки. Результаты обследования детей, переболевших катаром верхних дыхательных путей, пневмонией, гриппом, дизентерией, скарлатиной, ветряной оспой и др., представлены в табл. 4.

Как показал анализ, разница в иммунологическом состоянии обеих групп обследованных несущественна ( $P > 0,05$ ). Тем не менее в группе неболевших детей было меньше сывороток, не содержащих антител ни к одному из трех типов полиовирусов, чем у переболевших (38,4 и 47,5% соответственно), и больше сывороток

## Влияние перенесенных заболеваний на формирование у детей иммунитета к полиомиелиту

Группа обследованных	Количество исследованных сывороток			Количество сывороток, содержащих антитела к полиовирусу типа							
	Всего	Не содержащих антител к полиовирусам		I, II, III		I		II		III	
		абс.	в %	абс.	в %	абс.	в %	абс.	в %	абс.	в %
Переболевшие за месяц до прививки, во время и через 2 недели после прививки	61	29	47,5 $P > 0,05$	11	18,0 $P > 0,05$	32	52,4	18	29,5 $P > 0,05$	16	26,2 $P > 0,05$
Не болевшие	151	58	38,4	44	29,1	87	57,6	52	34,4	50	33,1

с антителами ко всем трем типам (29,1 и 18,0% соответственно). Антитела к каждому из трех типов также чаще определялись у неболевших детей. Следовательно, возможно, что перенесенные заболевания и оказывали какое-то влияние на формирование иммунитета к полиомиелиту, но недостаточное число наблюдений не позволило сделать достоверные выводы.

Таким образом, результаты клинико-эпидемиологических, вирусологических и серологических наблюдений показали, что несмотря на своевременно проведенную вакцинацию воспитанников детского коллектива живой полиомиелитной вакциной из штаммов А. Сэбина, уровень иммунитета к полиомиелиту в этом коллективе не совсем удовлетворителен. Даже в первые 2—3 месяца после вакцинации у 27,5% детей не наблюдалось антител ни к одному из трех типов полиовирусов, и хотя 38,7% детей и имели полный набор антител, уровень их не достигал защитного.

Отрицательное влияние различных факторов (число и кратность прививок, носительство неполиомиелитных цитопатогенных агентов до, во время и после вакцинации, перенесенные заболевания) на эффективность вакцинации против полиомиелита в конкретных условиях не установлено.

Однако проведенные исследования подтвердили определенное неблагополучие в иммунологическом состоянии детей и показали необходимость проведения дальнейших наблюдений в этом направлении.

## Интерферогенные свойства живых энтеровирусных вакцин ЖЭВ-4, ЖЭВ-5 и ЖЭВ-7

Б. Д. Швецкая, Л. Г. Грунтовская, Г. И. Волчанецкая,  
А. И. Носатенко. Харьков

Способность живых вакцин индуцировать образование эндогенного интерферона в организме привитых является очень важным качеством, определяющим диапазон применения вакцин, так как интерферон обеспечивает состояние неспецифической резистентности к широкому кругу вирусных инфекций.

Интерферогенная активность живых энтеровирусных вакцин изучалась нами путем определения содержания интерферона в сыворотке крови детей, привитых ЖЭВ-4, ЖЭВ-5 и ЖЭВ-7 через 6—18 часов и на 1, 3, 7, 10, 14, 21-й и 90-й день после вакцинации. Всего было исследовано 459 парных сывороток. Выявление и титрацию интерферона проводили, учитывая подавление цитопатогенного эффекта вируса везикулярного стоматита. Титром считали наибольшее разведение исследуемой сыворотки, полностью подавлявшее цитопатогенное действие тест-вируса.

С момента взятия до исследования сыворотки хранили в замороженном состоянии. Все пробы от каждого привитого испытывали одновременно в одном опыте.

Методика определения интерферона сводилась к следующему. К исследуемой сыворотке добавляли раствор 6N HCl до получения pH 2,0. Концентрацию водородных ионов определяли с помощью микропотенциометра Н-370. Подкисленные сыворотки оставляли при  $+4^{\circ}$  на 3 суток, после чего с помощью 6N NaOH доводили их pH до 7,4—7,6. Обработанные таким образом пробы разводили раствором Хенкса от 1:5 до 1:1280. Каждым разведением исследуемой сыворотки обрабатывали культуру фибробластов человеческого эмбриона: в пробирку со сформировавшимся монослоем клеток добавляли 0,5 мл исследуемой сыворотки и оставляли в термостате при  $36^{\circ}$  на 16—17 часов. Затем культуру клеток дважды отмывали раствором Хенкса от сыворотки, добавляли вирус везикулярного стоматита в объеме 0,1 мл, содержащем 100 ТЦД<sub>50</sub> и вирус, оставляли на 1 час для контакта, после чего в пробирку наливали по 1 мл поддерживающей среды 199.

Контролем в опыте служили культуры клеток без добавления интерферона и вируса (контроль клеток) и клетки, не обработанные интерфероном с добавлением 0,1 мл тест-вируса в дозе 100 ТЦД<sub>50</sub> (контроль вируса). Результаты опытов учитывали при наступлении полной дегенерации ткани в контроле вируса.

В таблице представлены результаты проведенных исследований. Как видно из данных таблицы, до применения изучавшихся препаратов в сыворотке крови ряда обследованных интерферон содержался в невысоких титрах. До введения вакцин интерферон был обнаружен у 28,2; 64,0 и 27,2% детей соответственно. Спустя

Динамика содержания интерферона в сыворотках крови детей, привитых живыми вакцинами

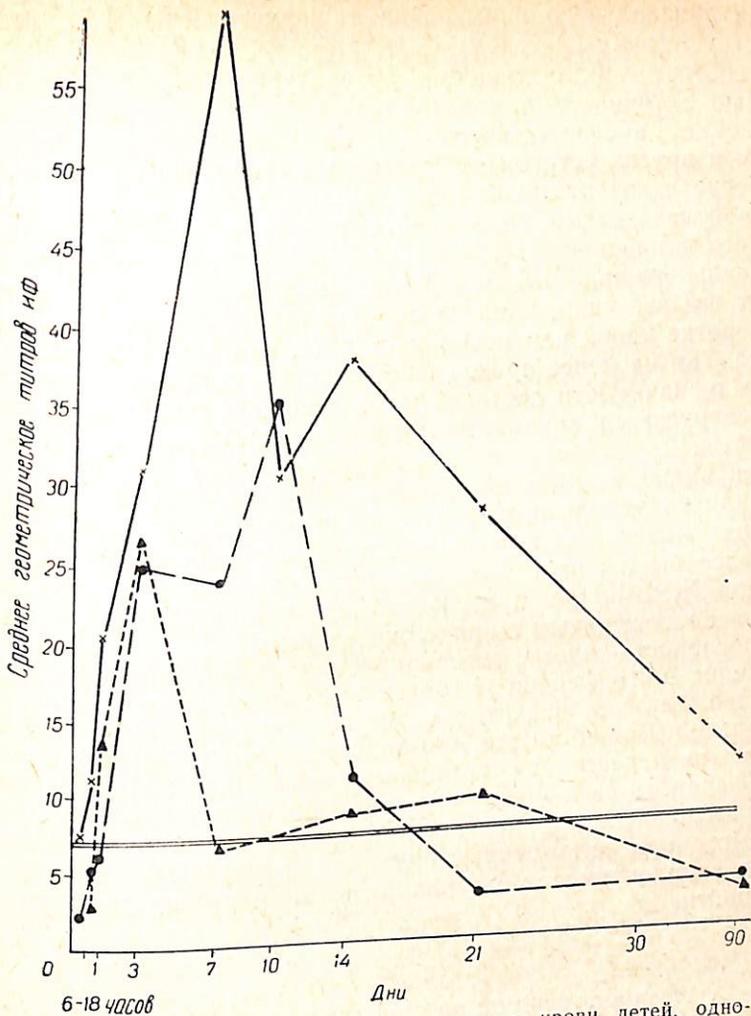
Срок наблюдения	ЖЭВ-4			ЖЭВ-5			ЖЭВ-7			Всего обследовано
	Количество обследованных	Из них с интерфероном в крови, %	Геометрическая титра интерферона	Количество обследованных	Из них с интерфероном в крови, %	Геометрическая титра интерферона	Количество обследованных	Из них с интерфероном в крови, %	Геометрическая титра интерферона	
До вакцинации	39	28,2	$1,95 \pm 1,38$	25	64,0	$7,39 \pm 3,8$	33	27,2	$2,13 \pm 2,55$	97
После вакцинации через 6—18 часов	35	51,4	$5,24 \pm 1,57$	20	80,0	$11,22 \pm 1,69$	32	43,7	$3,71 \pm 1,59$	87
	38	63,3	$14,45 \pm 1,72$	24	70,8	$25,12 \pm 2,23$	30	76,6	$20,89 \pm 1,78$	92
1—3 дня	20	80,0	$27,54 \pm 2,39$	21	87,5	$46,77 \pm 1,95$	16	56,2	$7,94 \pm 2,45$	60
7—10 дней	16	68,7	$7,76 \pm 2,23$	22	77,2	$33,11 \pm 2,04$	21	61,9	$8,75 \pm 5,31$	59
4—21 день	21	33,3	$2,9 \pm 2,04$	18	72,2	$11,4 \pm 1,9$	25	32,0	$2,47 \pm 3,16$	59
90 дней										64

6—18 часов после вакцинации увеличилось количество детей с интерфероном в крови, однако средняя геометрическая его титров заметно не изменилась.

Статистически достоверное увеличение средней геометрической титров интерферона у привитых произошло на 1—3-и сутки после вакцинации.

Максимальные титры индуцированного интерферона отмечены у привитых ЖЭВ-7 на 1—3-и сутки после вакцинации, у привитых ЖЭВ-5 — на 7-е сутки, у привитых ЖЭВ-4 — на 10-й день и составляли соответственно  $20,89 \pm 1,78$ ,  $46,77 \pm 1,95$  и  $27,54 \pm 2,39$ .

Активный интерферогенез наблюдался и у тех детей, в сыворотке которых до вакцинации интерферон определялся в невысоких титрах. Максимальное количество лиц с интерфероном в крови среди привитых ЖЭВ-4 было отмечено на 7—10-й день после вакцинации (80,0%), среди привитых ЖЭВ-5 — в эти же сроки (87,5%)



Динамика титров интерферона в сыворотках крови детей, однократно привитых:

--- ЖЭВ-4; - - - - - ЖЭВ-7; ————— ЖЭВ-5; ═══════ титр интерферона в коммерческом препарате.

и среди привитых ЖЭВ-7 — на 1—3-е сутки после вакцинации (76,6%).

Динамика интерферонообразования у привитых более подробно представлена на рисунке, где за эталон для сравнения принят титр коммерческого лейкоцитарного интерферона, выпускаемого

для интраназального применения (арифметический 1:32, что соответствует геометрическому 7,4).

В соответствии с данными литературы, интерферон с такой степенью активности при интраназальном применении оказывает выраженное профилактическое и терапевтическое действие при гриппе и других острых респираторных заболеваниях. И хотя это сравнение в значительной мере условно, так как проводится оно между показателями уровня интерферона в крови и концентрацией его в препарате, трудно себе представить, чтобы после интраназального применения лейкоцитарного интерферона, даже при частом его введении, удалось достичь такой же концентрации его в сыворотке крови или носовом секрете, как в коммерческом препарате. Тем не менее проводимое сопоставление дает возможность судить о значимости достигнутых с помощью вакцинации живыми энтеровирусными вакцинами титров интерферона в сыворотках привитых.

Как видно из рисунка, живые энтеровирусные вакцины обеспечивали индукцию интерферона в титрах в 3—8 раз более высоких, чем имеет продажный препарат, на срок от 14 до 21 дня. Наиболее выраженной интерфероногенной активностью обладала вакцина ЖЭВ-5, при применении которой интерфероногенез был наиболее интенсивным и продолжительным.

Способность живых энтеровирусных вакцин индуцировать образование интерферона в организме привитых — очень важное качество, так как значительно расширяет круг применения этих препаратов. Важно также, что вакцины эти обеспечивали соответствующую перестройку организма даже при невысоких титрах интерферона в сыворотках крови прививавшихся детей.

Применение всех трех препаратов представляется экономически выгодным, легко осуществимым и эффективным способом снижения заболеваемости энтеровирусными и респираторными заболеваниями.

### **Влияние вакцин на организм детей по данным клинко-биохимического и иммунологического исследований**

*В. В. Медведева, Н. И. Кулаженко. Ворошиловград*

При оценке влияния различных вакцин на организм учитываются ближайшие и отдаленные последствия прививок. Описаны необычные реакции на введение некоторых препаратов в ближайший поствакцинальный период. Опасность отдаленных последствий

прививок в виде аллергической перестройки организма, по-видимому, преувеличена. Во всяком случае, как отмечает И. Н. Моргунов (1970), достоверные сведения о гетероаллергических реакциях, связанных с иммунизацией здоровых лиц, в литературе отсутствуют.

В настоящей работе представлены результаты изучения реактогенности ряда вакцин с помощью методов, используемых в клинике для установления степени патологических изменений в организме. С этой целью были проведены наблюдения за реакциями на прививку у детей, изучены морфологический состав крови и РОЭ, соотношение белковых фракций, наличие С-реактивного белка в сыворотке крови. Одновременно при иммунизации некоторыми препаратами изучали формирование специфического иммунитета по наличию антител в сыворотке крови.

На протяжении 1964—1970 гг. клинические реакции на прививку были изучены у 601 привитого, из которых дифтерийным анатоксинам ревакцинировано 54 ребенка, столбнячным — 27, вакциной БЦЖ — 31, оспенной — 61 (вакцинация и ревакцинация), живой полиомнелитной вакциной — 37, коревой из штаммов ЭШЧ и Ленинград-16 — 298, гриппозной — 93 ребенка. Исследование белковых фракций сыворотки крови произведены у 377 детей, у 176 из них одновременно определяли морфологический состав крови и РОЭ, а у 166 — наличие С-реактивного белка. Определение специфических антител в крови производили у 54 привитых дифтерийным анатоксином по реакции Рёмера и у 93 иммунизированных против гриппа — по РТГА. Кроме того, в эксперименте на 24 кроликах были изучены характер и продолжительность изменений белковых фракций и динамика накопления антигемоглобинов при иммунизации оспенной вакциной, а на 15 морглютининных свинках — соотношение белковых фракций при вакцинации БЦЖ.

Исследования производили до прививки, во время поствакцинальных реакций и в более отдаленные сроки для установления продолжительности изменений. Достоверность полученных результатов проверяли путем определения критерия  $t$  и величины  $P$ .

Характер реакций на прививку у всех иммунизированных лиц был обычным, каких-либо чрезмерных реакций не наблюдалось.

В литературе не описаны случаи серьезных осложнений, связанных с применением дифтерийного и столбнячного анатоксинов у детей. По нашим данным, реактогенность этих препаратов невысока. У большинства привитых либо возникают слабые местные реакции, либо реакции отсутствуют. У детей, привитых живой полиомнелитной вакциной, клинические реакции на прививку не наблюдались. При анализе характера реакций у 298 детей, привитых

против кори, у 99 (33,2%) отмечены явления, характерные для митигированной кори, — кашель, насморк, конъюнктивит, повышенные температуры тела (изредка до 38,6—39°), иногда появление специфической сыпи. В число реакций включались клинические явления, возникавшие через 5 дней — 3 недели после прививки. У детей в возрасте до 2 лет реакции на вакцинацию против кори возникали в 62,1% случаев.

Клинические реакции на прививку гриппозной вакцины зарегистрированы у 42 из 93 обследованных (45,2%). Они имели характер гриппозных явлений — насморк, кашель (иногда сильный), головная боль, усиленное потоотделение, изредка повышение температуры тела, стеснение в грудной клетке, появление герпеса.

При первичной иммунизации оспенной вакциной в основном наблюдались средней силы местные и общие реакции. Ревакцинация оспенной вакциной и вакциной БЦЖ вызывала слабые местные реакции.

Изменения в клинической картине крови — ускорение РОЭ, сдвиг лейкоцитарной формулы влево при нормальном количестве лейкоцитов — в основном не выходили за пределы нормы. Однако при оспенной вакцинации наблюдалось ускорение РОЭ до  $12,4 \pm \pm 1,5$  мм/час (увеличение исходного показателя в два раза), нарастание процента палочкоядерных форм до  $5,8 \pm 0,8\%$  (повышение в три раза), исчезновение эозинофилов.

С-реактивный белок определяли у 96 детей, привитых коревой вакциной, у 40 привитых гриппозной и у 30 живой полиомиелитной вакциной. Появление С-реактивного белка в крови иммунизированных оказалось в прямой зависимости от наличия реакций на прививку. У большинства обследованных (35 из 49), у которых наблюдались реакции на прививку против кори, в поствакцинальном периоде в крови появлялся С-реактивный белок. Только у некоторых привитых гриппозной вакциной (8 из 22), у которых отмечались поствакцинальные явления, были обнаружены слабоположительные реакции на С-реактивный белок. У детей, иммунизированных ареактогенной живой полиомиелитной вакциной, С-реактивный белок в крови не обнаружен.

Результаты исследования белковых фракций крови у 377 привитых различными профилактическими препаратами и экспериментальные данные свидетельствуют о том, что изменения фракционного состава белков крови в поствакцинальном периоде отражают реактогенность вакцин.

У детей, иммунизированных дифтерийным и столбнячным анатоксинами, полиомиелитной вакциной во время поствакцинального периода, не выявлено выраженных изменений в соотношении белковых фракций. Спустя 2—3 месяца после прививки дифтерийным

анатоксином были изучены одновременно соотношение белковых фракций и уровень антитоксина в крови. Титр антитоксина оказался повышенным в десятки и сотни раз, а количество белковых фракций не изменилось.

При исследовании фракционного состава белков у привитых оспенной, коревой, гриппозной, туберкулезной вакцинами в поствакцинальный период обнаружены однотипные изменения: уменьшение содержания альбуминов и увеличение глобулинов, в основном за счет альфа-2- и гамма-фракций. Более выраженные изменения в белковом составе крови отмечены при первичной иммунизации оспенной и коревой вакцинами у детей, привитых в раннем возрасте (до двух лет). В первом случае количество альбуминов уменьшилось на 13,2%, гамма-глобулинов — увеличилось до 5,7%. Показатель достоверности изменений в глобулинах был наиболее высок ( $t=4,2$ ,  $P<0,001$ ). У детей, привитых коревой вакциной в возрасте до двух лет, в поствакцинальном периоде содержание альбуминов уменьшилось на 8%, содержание альфа-2-глобулинов увеличилось на 2,8%, гамма-глобулинов — на 4,2% (во всех показателях  $P<0,001$ ). При ревакцинации детей оспенной и туберкулезной вакцинами сдвиги в соотношении белковых фракций были менее выраженными. При этом уменьшение количества альбуминов происходило в основном за счет нарастания альфа-2-глобулинов.

В эксперименте на животных получены результаты, свидетельствующие о том, что характер и продолжительность изменений белкового состава крови зависят от дозы и метода иммунизации. С увеличением дозы вакцины увеличивается содержание гамма-глобулинов, причем повышается уровень специфических антител в крови. Однако при однократной ревакцинации оспенной вакциной содержание антигемагглютининов было значительно выше, чем при вакцинации, хотя заметных изменений в глобулинах при этом не наблюдалось.

В клинике и эксперименте, соответственно при ревакцинации и вакцинации БЦЖ, изменение белковых фракций обнаружено только в период поствакцинальных реакций. Отсутствие нарастания уровня гамма-глобулинов позволяет сделать заключение, что иммунизация вакциной БЦЖ не оказывает значительного влияния на организм.

Электрофоретическое исследование в процессе иммунизации гриппозной вакциной (на 4—5-й день после прививки) показало уменьшение содержания альбуминов в сыворотке крови детей на 6,5% после первой прививки, на 7,2% — после второй и на 2,6% — после третьей по сравнению с исходным уровнем. Различия достоверны (при разности 2,6%  $t=2,0$ ,  $P<0,05$ ). Соответствен-

но увеличивалось при этом содержание альфа-2- и гамма-глобулинов, особенно после второй прививки, т. е. через 2 недели после начала иммунизации. Спустя 2 недели после третьей прививки соотношение белковых фракций нормализовалось. При исследовании в этот период сыворотки крови привитых отмечено повышение титра антигемагглютининов.

Следовательно, независимо от уровня специфического иммунитета при иммунизации реактогенными препаратами происходят значительные изменения белковых фракций крови, появляется С-реактивный белок. В литературе также есть указания на то, что неправильно относить любое изменение сывороточных белков при гипериммунизации только за счет образования антител (Kabat, Maueg, 1964).

Таким образом, во время поствакцинальных реакций происходят изменения белкового состава крови, отражающие реактогенность вакцин. По данным клинических наблюдений и биохимических исследований крови, наиболее существенное влияние на организм детей оказывает первичная иммунизация оспенной вакциной, а также коревой в раннем возрасте.

Полученные данные позволяют сделать вывод о целесообразности пересмотра сроков прививок с целью отказа от проведения вакцинации детей в возрасте до двух лет одной из реактогенных вакцин (оспенной, коревой).

### **Использование сгустков крови для дополнительного получения антител при производстве агглютинирующих сывороток**

*В. Я. Чаплинский, В. П. Крылова, В. С. Сотников,  
Ж. И. Пособилова. Днепропетровск*

При производстве агглютинирующих сывороток используется, как известно, сыворотка крови, полученная от животных-продуцентов после их вакцинации соответствующими антигенами. При этом кровяные сгустки как ненужные отходы производства выбрасываются.

Нами разработан способ дополнительного извлечения антител из сгустков крови. Применение этого способа позволит на 5—6% увеличить получение антител от животных-продуцентов при производстве агглютинирующих сывороток.

В опыте использованы кролики весом 2,3—2,6 кг. Вакцинацию проводили внутривенно, многократно, по схемам МРТУ. Различным группам животных вводили гретье или формализи-

рованные антигены, приготовленные из штаммов салмонеллезной или дизентерийной групп микробов. Ниже описывается методика получения экстрактов из сгустков крови и приводятся результаты их серологического и биохимического изучения.

Сгустки крови измельчали до кашнеобразной консистенции, заливали равным объемом 1% раствора поваренной соли и помещали на сутки в холодильник при температуре +4—6°. Через сутки смесь центрифугировали в течение 45—50 минут при 3 тыс. об/мин, надосадочную жидкость сливали и в ней определяли общепринятыми методами специфические и неспецифические антитела, общий белок, белковые фракции и т. д.

Таблица 1

Содержание специфических антител-агглютининов в сыворотке крови и в экстрактах сгустков крови иммунизированных животных

Антиген, применявшийся для иммунизации	Титр антител	
	сыворотка крови	экстракты из сгустков крови
Гретье в течение 2 часов при 100° антигены		
<i>S. paratyphi</i> A	1 : 1600	1 : 200
<i>S. cholerae</i> suis	1 : 3200	1 : 200—1 : 400
<i>S. typhi</i>	1 : 12800	1 : 800
Формалинизированные антигены		
<i>S. cholerae</i> suis	1 : 25600	1 : 800
<i>S. typhi</i>	1 : 51200	1 : 1600
<i>S. paratyphi</i> B	1 : 12800	1 : 800
<i>S. enteritidis</i>	1 : 51200	1 : 800
<i>S. abortus equi</i>	1 : 25600	1 : 800
<i>S. abortus equi</i>	1 : 12800	1 : 400
Спирто-ацетоновый антиген		
<i>S. itutaba</i>	1 : 12800	1 : 800
Гретье в течение 2 часов при 100° антиген		
<i>S. anatum</i>	1 : 6400	1 : 400
Формалинизированные антигены Шигелла		
Флекснера 3в-36	1 : 51200	1 : 1600
Формалинизированные антигены Шигелла		
Ньюкестл	1 : 12800	1 : 800

В табл. 1 приводятся результаты определения содержания антител в экстрактах из сгустков крови и в сыворотке крови с помощью реакции агглютинации.

Анализ данных табл. 1 показывает, что в экстрактах из сгустков крови содержание антител-агглютининов в 10—20 раз меньше, чем в соответствующих сыворотках, но все же достаточно высоко (титр агглютининов в экстрактах сгустков крови колеблется от 1:400 до 1:1600). Вид микробов, из которых был приготовлен антиген для иммунизации, так же как и способ обработки антигена

Таблица 2

Содержание общего белка и белковых фракций в сыворотке крови и экстрактах из сгустков крови иммунизированных животных

Антиген, применявшийся для иммунизации	Сыворотка крови				Экстракт из сгустков крови				
	Общий белок в %	Белковые фракции в %			Общий белок в %	Белковые фракции в %			
		альбумины	альфа-глобулины	бета-глобулины		гамма-глобулины	альбумины	альфа-глобулины	бета-глобулины
Формалинизированный антиген <i>S. abortus equi</i>	10,0	67,4	3,5	14,0	15,1	20,0	7,5	20,0	52,5
Гретый при 100° в течение 2 часов антиген <i>S. typhi</i>	7,5	59,6	11,4	15,2	13,8	39,4	12,8	19,1	28,7
Формалинизированный антиген <i>S. paratyphi A</i> <i>S. paratyphi B</i>	7,45	62,3	12,9	11,2	13,6	32,3	13,8	20,0	33,9
	8,85	61,1	11,8	10,1	17,0	24,6	12,3	32,3	30,8
Гретый в течение 2 часов при 100° антиген <i>S. paratyphi B</i>	8,15	65,4	11,0	10,8	12,8	30,3	6,1	9,0	54,6
Формалинизированные антигены <i>S. london</i>	7,4	60,5	11,4	12,1	16,0	26,5	12,4	12,7	48,4
Шигелла Флекнера 3в-36 » Ньюкестл	7,6	59,8	10,9	16,3	13,0	29,6	10,7	23,9	35,8
	7,9	61,3	10,6	15,7	12,4	31,3	12,7	16,1	40,1

(кипячение или прибавление формалина), не оказывали заметного влияния на титр агглютининов в экстрактах сгустков крови по сравнению с соответствующими сыворотками.

Результаты биохимического (по методу Кьельдаля) и электрофоретического исследований экстрактов из сгустков крови представлены в табл. 2.

Из данных табл. 2 видно, что в экстрактах из сгустков крови содержится от 0,2 до 2% белка. При этом распределение белковых фракций в них иное, чем в сыворотке крови. Так, например, глобулиновые фракции, в частности гамма-глобулиновая, имеют значительно больший удельный вес в экстрактах из сгустков по сравнению с сывороткой крови. Эта закономерность отмечается как при иммунизации животных гретыми антигенами, так и при иммунизации формалинизированными антигенами, приготовленными из различных штаммов кишечной группы микробов.

Таким образом, результаты и серологических, и биохимических исследований подтверждают то, что применение способа получения антител из сгустков крови при производстве агглютинирующих сывороток является целесообразным, так как он позволяет получать большее количество исходного сырья и увеличить выход продукции на 5—6%, при использовании наряду с сывороткой отходов производства.

### **Методика получения антигенов из *Candida* с помощью ультразвука и их биохимический анализ**

*С. И. Бидненко. Киев*

Серологические исследования чрезвычайно важны для достоверной и своевременной диагностики кандидозов, ставших в последние десятилетия весьма актуальной проблемой медицины. Для успешной серодиагностики заболевания, наряду с другими условиями, большое значение имеет качество применяемого антигена, его чувствительность и специфичность. Используемые в настоящее время кандидозные антигены не являются вполне удовлетворительными. Возможно, это связано со способами получения антигенных препаратов, чаще всего химическими, которые могут существенно нарушать антигенную структуру клеток (П. Н. Кашкин, 1962).

Нами была предпринята попытка использовать для получения кандидозных антигенов ультразвук, поскольку ультразвуковая дезинтеграция с успехом применяется для получения антигенов из ряда микроорганизмов: туберкулезных, коклюшных, энтеробакте-

рий и др. (А. И. Торгунова и др., 1959; Н. Я. Мошиашвили, И. М. Файкин, 1968; Е. С. Станиславский, М. И. Жванецкая, 1963). Вопрос о применении ультразвуковых волн для получения антигенов из грибов рода *Candida* пока изучен мало (Servi, 1958; Barone, Giunchi, 1958; Taschdjian, Kozinn, Sabouraudia, 1964; Ю. В. Волощенко, 1965).

Цель настоящей работы заключалась в отработке оптимальных условий (режим озвучивания, концентрация взвеси грибов и т. д.)

Таблица 1  
Зависимость степени разрушения (в %) клеток грибов *Candida* от концентрации и времени озвучивания

Концентрация в 1 мл взвеси, мг	Время озвучивания, часы				
	1	1,5	2	3	4
0,5	40	50	50	50	50
1,25	15	30	40	60	60
7,5	15	20	25	25	25
10	10	12	15	15	15
20	10	10	12	15	15
30	10	10	12	15	15

для получения наиболее активных в серологических реакциях антигенов и в исследовании их химического состава.

Ультразвуковые антигены получали из трех штаммов грибов: музейных штаммов *C. albicans*, *C. tropicalis* и штамма *C. albicans* № 200, выделенного от больной генерализованным кандидозом. Все штаммы по своей микологической характеристике были типичными для соответствующего вида дрожжеподобных грибов.

Культуры выращивали в течение 48 часов на сусло-агаре и озвучивали на аппарате УЗ-1, изготовленном в экспериментальных мастерских Киевского института физиологии им. акад. А. А. Богомольца, при частоте УЗ-волн 800 кГц и мощности 4,5—5 вт/см<sup>2</sup>. Взвесь грибов в 100 мл дистиллированной воды озвучивали в тонких стеклянных колбах емкостью 250 мл.

При изучении разных концентраций клеток грибов в озвучиваемых взвесах с целью определения наибольшего процента их разрушения были получены данные, представленные в табл. 1. Процент разрушенных клеток определяли путем их подсчета в гемцитометре с сеткой Горяева до озвучивания и в ходе его, а также путем высева на чашки с сусло-агаром 0,1 мл озвучиваемой взвеси из разведений  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  с последующим пересчетом на 1 мл. Результаты параллельных подсчетов в основном совпадали.

Как видно из табл. 1, достичь разрушения более 60% клеток на аппарате УЗ-1 не удавалось. Максимальное количество разрушенных клеток при всех концентрациях достигалось на 3-м часу озвучивания. С целью получения наибольшего выхода антигенного препарата в дальнейшем работа проводилась только с суспензиями, содержащими 30 мг влажной массы в 1 мл. Выход лиофильно

высушенного антигена был наибольшим при двух- и трехчасовом озвучивании и составлял (в среднем по 3—4 сериям) для *C. albicans* № 62 соответственно 16,2 и 16,1%; для *C. tropicalis* — 15 и 15%; для *C. albicans* № 200 — 14,2 и 14,9%.

Во время озвучивания клеточную суспензию необходимо охлаждать, так как уже через 1—2 часа озвучивания без охлаждения температура взвеси в колбе поднималась на 20—25° и достигала 45°, что приводило к резкому снижению серологической активности антигенного препарата. Во избежание этого при получении ультразвуковых антигенов мы постоянно охлаждали стенки ванны проточной водой и периодически добавляли в ванну кусочки льда. В этих условиях температура суспензии в течение 3 часов озвучивания повышалась только на 2—3° и не превышала 22°.

Из тех же штаммов *Candida* нами были получены по методу Н. Е. Елинова (1954) β-нафтоловые антигены, которые использовались в качестве эталона для сравнения как содержащие высокий процент полисахаридов и одни из лучших в настоящее время антигенов для серодиагностики кандидозов.

Таким образом, в результате проведенных исследований был определен оптимальный режим получения ультразвуковых антигенов в конкретных условиях эксперимента: 100 мл суспензии в стерильной дистиллированной воде, содержащей 3 г влажной массы озвучиваемого штамма, подвергали при постоянном охлаждении озвучиванию в течение 1, 2 и 3 часов (в зависимости от цели предстоящего исследования), после чего озвученную взвесь центрифугировали в течение 30 минут при 6,5 тыс. об/мин и надсадочную опалесцирующую жидкость подвергали лиофильному высушиванию. Полученные препараты представляли собой слегка желтоватый воздушный порошок, легко растворимый в воде и солевых растворах.

Биохимическому анализу были подвергнуты 10 серий антигенов, в том числе:

2 серии β-нафтоловых антигенов из *C. albicans* № 62 (серия I) и *C. tropicalis* (II);

2 серии УЗ-антигенов из *C. albicans* № 62 после 3 часов озвучивания (III и IV);

2 серии УЗ-антигенов из *C. albicans* № 62 после 3 часов озвучивания без охлаждения (V и VI);

2 серии УЗ-антигенов из *C. tropicalis* после 3 часов озвучивания (VII и VIII);

1 серия УЗ-антигенов из *C. albicans* после 2 часов озвучивания (IX);

1 серия УЗ-антигенов из *C. albicans* № 200 после 3 часов озвучивания (X).

Биохимический состав кандидозных антигенов, полученных с помощью ультразвука и  $\beta$ -нафтола (в % к весу антигена)

Серия антигена	Определяемые вещества				
	Общее количество углеводов	Белок	Нуклеиновые кислоты	Фосфор	Глюкозамин
I	78,8	4,4			
II	85,6	4,3			
III	38,5	14,3	4,1	2,8	1,3
IV	32,2	12,4	3,8	2,3	1,6
V	15,1	12,2			
VI	17,2	13,1			
VII	43,3	14,5			
VIII	41,3	11,7			
IX	36,0	8,1			
X	52,4	5,5			

В препаратах определяли количественное содержание углеводов и белка (во всех 10 сериях), а также фосфора, нуклеиновых кислот, глюкозамина и хроматографически качественный состав моносахаров (в III и IV сериях). Каждое определение проводили в виде двух-трех параллельных проб, окончательный результат учитывали по усредненному показателю.

Общее количество углеводов определяли методом Гамильтона, белка — по Лоури, фосфора — по Fiske и Subbarow, нуклеиновых кислот — по П. С. Спирину, глюкозамина — по Randle. Качественный состав моносахаров в гидролизате определяли методом нисходящей распределительной хроматографии на бумаге в системе растворителей *n*-бутиловый спирт — уксусная кислота — вода в соотношении 4:1:5. Растворитель пропускали дважды в течение 48 часов. При этом использовали 1% стандартные растворы сахаров. Хроматограммы проявляли анилингидрогенфталатом при 105°. Результаты проведенных исследований представлены в табл. 2.

Полученные данные позволяют считать, что ультразвуковые кандидозные антигены представляют собой сложные комплексы глюкотеидной природы, содержащие в среднем около 40% углеводов и около 12—13% белка. Низкое содержание углеводов в V и VI сериях (соответственно 15,1 и 17,2%) по сравнению с сериями III и IV (соответственно 38,0 и 32,2%), где антигены получены из одного и того же штамма при одинаковом времени озвучивания (3 часа), но без охлаждения (серии V и VI), подтверждает важность постоянного охлаждения суспензии в процессе получения антигена. Качественная реакция на белок (биуретовая

проба) была отрицательной, что связано, очевидно, с тем, что белок в ультразвуковых антигенах находится в комплексе с полисахаридом. Хроматографический анализ позволил выявить в антигенах из *C. albicans* № 62 глюкозу и маннозу визуально почти в равных количествах.

Полученные препараты были испытаны в РСК и РНГА (судя по литературным источникам, ультразвуковые кандидозные антигены в данной реакции ранее не применялись) с кроличьими иммунными сыворотками против целых клеток указанных выше штаммов *Candida*. При этом была выявлена высокая активность ультразвуковых антигенов в данных реакциях: РНГА была положительной на 4 плюса при максимальном разведении гомологичной сыворотки 1 : 20480—1 : 40960; а РСК — при разведении сыворотки 1:2560—1:5120.

Таким образом, проведенные исследования позволили отработать оптимальные параметры озвучивания для получения наиболее активных в серологических реакциях антигенных препаратов из *Candida* и установить глюкопротеидную природу полученных антигенов. Выявлена также высокая чувствительность полученных кандидозных антигенов в реакциях непрямой гемагглютинации и связывания комплемента.

### Получение и изучение сухого лецитовителлина

*Н. Ф. Калининко, З. Г. Старобинец, Л. Г. Подгорная,  
С. В. Бирюкова. Харьков*

Прошло уже более 30 лет с того времени как Nagler (1941) предложил использовать для обнаружения лецитиназы микроорганизмов лецитовителлин (LV), который оказался в пять раз чувствительнее сывороток крови, примененных с этой же целью.

Лецитовителлин представляет собой эмульсию куриного желтка в солевом растворе. Его используют для обнаружения лецитиназы в некоторых клостридий, стафилококка, *V. cereus* и др. Кроме того, с помощью лецитовителлина можно определять активность анатоксина *Cl. perfringens* (EC) в реакции антитоксинсвязывания, соответствующих сывороток в реакции нейтрализации с токсином; входит также в состав желточных питательных сред для определения патогенных клостридий, стафилококков, *V. cereus* (Nagler, 1945; McClung, Toabe, 1947; Willis, Hobbs, 1959, и др.).

McFarlane, Knight (1941) считали, что лецитиназа *C.*, присущая многим патогенным микроорганизмам, расщепляет лецитин

желтка на два фрагмента — диглицерид и фосфохолин. В растворах, содержащих лецитиназу, или в агаре вокруг колоний лецитиназоактивных штаммов при добавлении лецитовителлина образуется опалесцирующее непрозрачное жировое кольцо.

Жидкий лецитовителлин, приготовленный в лабораторных условиях, обладает существенным недостатком — нестандартностью и чувствительностью к различным факторам внешней среды. Его состав может варьировать в зависимости от веса желтков, количества в них липопротеинов. Он разрушается в течение 7—10 дней, легко загрязняется микроорганизмами и поэтому теряет свои специфические свойства. При встряхивании быстро мутнеет, требует особых условий хранения в рефрижераторе. Каждая новая серия лецитовителлина после изготовления и в процессе хранения нуждается в определении рабочей дозы с соответствующим референс-токсином или микроорганизмом. Не все лаборатории могут провести такие исследования и обеспечить условия хранения лецитовителлина.

В связи с этим наши исследования были направлены на получение и испытание качественного лецитовителлина, не имеющего перечисленных недостатков. Этим условиям удовлетворяет сухой лецитовителлин по стабильным свойствам и составу входящих в него веществ.

Для приготовления лецитовителлина использовали свежие желтки куриных яиц, вес которых колебался от 15 до 30% среднего веса яйца. В производственных условиях невозможно стерильно сортировать желтки, поэтому мы считали, что стандартизации по химическому составу и в биологической пробе со стандартным референс-токсином *Cl. perfringens* должен быть подвергнут готовый продукт. В качестве референс-токсина был использован сухой токсин *Cl. perfringens* типа А, полученный путем высаливания фильтрата 12-часовой культуры *Cl. perfringens* 28 (ВР6К) 60% серноокислым аммонием.

С целью получения сухого лецитовителлина свежие желтки куриных яиц эмульгировали 1 : 1—1 : 4 по объему в растворе стабилизатора с 0,5—1% поваренной соли, центрифугировали при 4000—10000 об/мин. Надосадочную жидкость фильтровали через гальковые фильтры, расфасовывали во флаконы по 5 мл и высушивали в камерах с помощью лиофилизации. Сухой лецитовителлин представляет собой пористую массу светло-желтого цвета.

В высушенных препаратах определяли содержание лецитина, общего фосфора (по Фиске — Субарроу) и общего азота (по Кьельдалю), остаточную влажность и активность с референс-токсином или культурой.

Высушивание эмульсии желтков без добавления стабилизато-

Таблица 1

Растворимость сухих лецитовителлинов в зависимости от вида и концентрации стабилизатора

Стабилизатор	Растворимость лецитовителлина при концентрации стабилизатора, %				
	1,0	2,5	5,0	7,5	10,0
Глюкоза	—	±	±	+	+
Сахароза	—	±	+	+	+
Лактоза	—	±	+	+	+
Сорбит	—	±	+	+	+
Лошадиная сыворотка	—	—	—	—	—

Примечания: — нет растворения; ± неполное растворение; + растворение.

ров позволяет приготовить сухой препарат, но он не растворяется в физиологическом растворе или дистиллированной воде. Сухие же лецитовителлины со стабилизаторами быстро растворяются в физиологическом растворе и дистиллированной воде.

В качестве стабилизатора были использованы лошадиная сыворотка, а также различные углеводы и многоатомные спирты (глюкоза, лактоза, сахароза, сорбит и др.). В результате исследований было установлено, что только углеводы и многоатомные спирты удовлетворяют условиям получения сухого лецитовителлина. Количество этих веществ, необходимое для обеспечения удовлетворительной растворимости сухого лецитовителлина, было определено в специальных опытах. Для этого готовили эмульсии желтков в 1—10% концентрациях стабилизаторов. Затем эти смеси высушивали.

Данные определения растворимости сухих лецитовителлинов в физиологическом растворе приведены в табл. 1.

Опыты показали, что эмульгирование желтков в 5% растворе стабилизатора позволяет получить вполне удовлетворительные результаты. Все вещества, за исключением лошадиной сыворотки, т. е. глюкоза, сахароза, лактоза и сорбит, оказались пригодными для высушивания лецитовителлина. В дальнейшем для эмульгирования желтков мы применяли 5% концентрацию стабилизаторов.

По той же методике мы изготовляли препараты из утиных и индюшиных желтков. Растворимость сухого лецитовителлина из желтков яиц различных птиц существенно не различалась.

Чувствительность сухих лецитовителлинов испытывали с референс-токсином *Cl. perfringens* типа А серии 29.

Таблица 2

Химический состав и сравнительная чувствительность сухих лецитовителлинов, изготовленных из желтков яиц различных птиц к действию токсина *Cl. perfringens*

Вид птиц	Влажность, %	Общий азот, %	Фосфор		Лецитин, %	Интенсивность реакции с токсином в разведении				
			общий	липидный		1:2—1:64	1:128	1:256	1:512	К
Курица	1,0	1,1	0,31	0,21	5,2	+++	++	+++	+	0
Утка	3,0	1,09	0,28	0,23	5,7	+++	++	+++	+	0
Индейка	3,0	1,1	0,35	0,24	5,7	+++	+++	++	++	0

Примечания: +++ — образование жирового кольца; +++, ++, + — помутнение различной интенсивности.

Постановка опытов была следующей: навеску токсина 0,02 г растворяли в 5 мл физиологического раствора и путем перекатки в объеме 0,5 мл разводили токсин в физиологическом растворе 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32 и т. д. В каждую пробирку с разведенным токсином добавляли 0,2 мл лецитовителлина. Для этого содержимое флакона растворяли в 5 мл физиологического раствора.

Контролем в опытах с каждой серией лецитовителлина служила смесь 0,5 мл физиологического раствора и 0,2 мл лецитовителлина. Смеси лецитовителлина с разведениями токсина, а также контрольные пробирки помещали в термостат на 2 часа при 37° (табл. 2).

Результаты опытов позволяют сделать вывод, что по своему составу и чувствительности сухие лецитовителлины, приготовленные из желтков яиц различных птиц, равноценны.

Однако в связи с тем, что куриные яйца являются более доступным сырьем по сравнению с утиными и индюшиными, в дальнейшем сухой лецитовителлин готовили только из куриных яиц. Всего было изготовлено 11 серий сухого лецитовителлина со следующими показателями: общий азот — 1—1,3%, лецитин — 5,5—7,5%.

В связи с тем, что по своему химическому составу различные серии лецитовителлина существенно не различались, представлялось весьма важным сравнить их чувствительность по отношению к референс-токсину *Cl. perfringens* типа А серии 29. С этой целью 8 серий сухого лецитовителлина изучали одновременно. Опыты

Реакция лецитиназы токсина *Cl. perfringens* типа А с различными сериями сухого лецитовителлина

Серия лецитовителлина	Степень реакции с разведениями токсина									
	цельный	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	К
2	++	++	++	++	++	++	++	+++	+	0
4	++	++	++	++	++	++	++	++	+++	0
7	++	++	++	++	++	++	++	++	++	0
9	++	++	++	++	++	++	++	++	+	0
10	++	++	++	++	++	++	++	++	+++	0
14	++	++	++	++	++	++	++	++	++	0
15	++	++	++	++	++	++	++	++	++	0
16	++	++	++	++	++	++	++	++	+++	0

были поставлены по описанному выше методу. Результаты исследований приведены в табл. 3.

Из представленных данных видно, что по своей чувствительности все 8 серий сухого лецитовителлина были равноценны. Примененный в качестве референс-токсина сухой токсин *Cl. perfringens* серии 29 в навеске 0,01 г содержал примерно 555 Dlm токсина для белой мыши весом 14—16 г. В реакции с лецитовителлином разведенный в 128 раз токсин обуславливает образование жирового кольца. Следовательно, лецитовителлин чувствителен к 4 Dlm токсина. В специально поставленных опытах было установлено, что чувствительность отдельных серий лецитовителлина по указанному критерию колебалась в пределах 2—4 Dlm.

Известно, что ионы кальция и магния активизируют лецитиназную активность токсинов *Cl. perfringens*. Четырнадцатая, 15 и 16 серии сухого лецитовителлина были проверены с указанным токсином, активизированным ионами кальция. Опыты были поставлены с разведенными на 0,05 М растворе  $CaCl_2$  и физиологическом растворе токсинами серий 1, 21, 30, 88. *Cl. perfringens* типа А. В случае применения сухих лецитовителлинов были получены четкие результаты. При этом было отмечено, что токсины, разведенные на хлористом кальции, оказались на одно разведение более активными.

Сухой лецитовителлин не изменял своих физических свойств и чувствительности к лецитиназе С в течение 7 месяцев (срок наблюдения) хранения в комнатных условиях.

Сухие лецитовителлины были использованы как добавка к твердым питательным средам для идентификации *Cl. perfringens* и стафилококков. Для выращивания указанных микроорганизмов к 2% мясопептонному агару добавляли лецитовителлин, разведенный во флаконах в 5, 10, 15 и 20 мл. К 15—20 мл питательной среды прибавляли 2—3 мл разведенного лецитовителлина. После 24—48-часового роста при 37° вокруг колоний штаммов *Cl. perfringens* типа А 28 (ВР6К), 235, SR-12, стафилококков — 209, 1061, 1623, n1, Wood, 1667, 1606 отмечалась четкая опалесценция среды. Следует отметить, что в питательной среде с рН 7,2—6,9 лецитовителлин сам обуславливает легкую опалесценцию агара. Однако это не мешает обнаруживать более интенсивное специфическое помутнение вокруг колоний. В питательных средах с рН 7,8—8,0 получались еще более четкие результаты, так как лецитовителлин в этих условиях не изменяет прозрачности агара.

Результаты проведенных исследований позволяют считать, что сухой лецитовителлин — стандартный препарат, пригодный для постановки реакций с растворами, содержащими лецитиназу, и для идентификации микроорганизмов, продуцирующих лецитиназу в твердых питательных средах, например *Cl. perfringens* и стафилококков.

### К вопросу о механизме действия интерферона

Т. И. Степанюк. Харьков

Изучение влияния вирусов на хромосомный аппарат клеток приобретает актуальность, так как установлено, что некоторые вирусы (кори, инфекционного гепатита и др.) способны вызывать точковые мутации или разрывы хромосом, а клетки с такими изменениями ядра могут дать начало клонам, способным к малигнизации. Предполагается, что аномалии новорожденных могут обуславливаться нерасхождением хромосом в мейозе у матерей под влиянием вирусов гепатита и краснухи.

В литературе приводятся данные о прямом повреждающем действии вирусов на хромосомы в культуре лейкоцитов периферической крови больных ветрянкой (Aula, 1963), корью (Nickols, 1962), гепатитом (Ю. А. Керкис, О. В. Саблина и др., 1967), а также в клетках различных культур ткани под влиянием вирусов

герпеса, краснухи, аденовируса 12-го типа, саркомы Рауса, SV-40 и др. (М. П. Чумаков, А. Н. Мустафина и др., 1964; Г. Р. Михайлова, 1967). Указанные авторы наблюдали повышение частоты хромосомных и хроматидных разрывов под влиянием вирусов и, как следствие этого, возникновение в ряде случаев морфологической и физиологической трансформации клеток.

Кроме повреждения хромосом, в клетках, инфицированных вирусом, обнаруживаются нарушения функции ядерного аппарата в виде аномальностей митоза и нарушения клеточного цикла, что выражается в угнетении или в стимуляции митоза, в отставании хромосом при формировании метафазы, в образовании многополюсных метафаз и многоядерных и полиплоидных клеток.

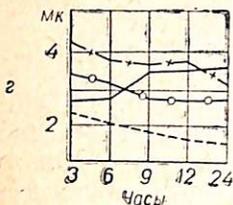
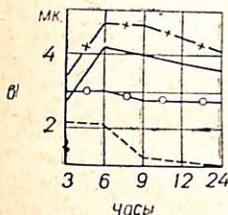
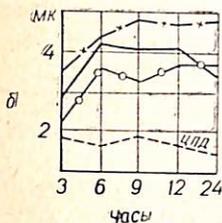
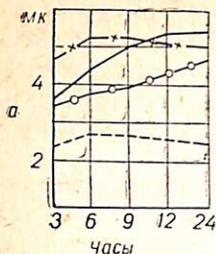
Nickols (1965) установил, что гамма-глобулин, введенный одновременно с вирусом кори, защищает ядерный аппарат клеток от повреждающего действия вируса, что выражается в снижении частоты разрывов хромосом до контрольного уровня.

В настоящее время всесторонне изучается значение интерферона в противовирусном иммунитете. Интерферон является фактором тканевой клеточной реактивности, а именно эта реактивность играет главную роль в первые часы вирусной инфекции, когда еще не вступили в действие антитела. Известно, что под влиянием интерферона клетки через 1,5—2 часа приобретают резистентность к вирусу, причем не нарушается метаболизм клетки, интенсивность синтеза белков и нуклеиновых кислот.

Задачей настоящей работы явилось изучение не освещенного в литературе вопроса о влиянии интерферона на деятельность ядерного аппарата клетки и его защитных свойствах против повреждающего ядерный аппарат действия вируса.

Клетки F1 культивировали в среде 199 с 10% бычьей сыворотки и 100 ед/мл пенициллина. Возраст клеток, взятых для опыта, — 48 часов. Клетки выращивали на покровных стеклах. Вирус — венерического стоматита, штамм Индиана, адаптированный к клеткам F1. Титр вируса —  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ . В опытах использовано 100 и 1000 ЦПД вируса. Интерферон — лейкоцитарный, сухой, очищенный, производства Московского института эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи, серии 46, 47, 126 и 127. Активность препарата, указанная при выпуске, — 100 ед. в ампуле по титрованию на диплоидных клетках. При титровании на клетках F1 активность оказалась более низкой (80—20 ед.). Для опыта готовили разведения интерферона для титрования на этих клетках.

Клетки выращивали на покровных стеклах в течение 48 часов. Среду заменяли раствором интерферона на 18 часов, после чего раствор удаляли и заменяли вирусом в разведении 100 или 1000 ЦПД в 1 мл. Через 3, 6, 9, 12 и 24 часа стекла фиксировали в растворе Буэна и окрашивали гематоксилином.



озоном, затем подсчитывали не менее 3000 клеток для определения митотического коэффициента и отклонений от нормы в стадиях метафазы и анафазы. Все пробирки делили на четыре группы: контроль ткани, контроль вируса, контроль интерферона и опыт. Из каждой группы фиксировали четыре стекла. Опыты дублировали.

Изучение влияния вируса везикулярного стоматита на клетки F1 в культуре ткани показало, что уже через 3 часа после заражения снижается митотическая активность клеток (в контроле ткани МК — 1,45, в контроле вируса — 1,17; в контроле ткани — 2,4, в контроле вируса — 1,1).

Через 6—9 часов после заражения наряду с понижением митотической активности начинала изменяться конфигурация ядра клеток: появлялось много ядер почковидной или бобовидной формы. К этому же времени увеличивается количество отклонений в стадиях мета- и анафазы. Чаще встречались отклонения в виде формирования метафазы с потерей хромосом, а также образование трехполюсных метафаз и анафаз.

При заражении клеток вирусом в дозе 100 ЦПД на пробирку к 24 часам наблюдалось сморщивание многих ядер. Они становились компактными и окрашивались в фиолетовый цвет. Митотическая активность была резко за-

Влияние вируса везикулярного стоматита и интерферона на митотическую активность клеток F1 в культуре ткани:

а — интерферон серия 127 4 ед/мл, вирус 100 ЦПД; б — интерферон серия 126 4 ед/мл, вирус 1000 ЦПД; в — интерферон серия 126 4 ед/мл, вирус 1000 ЦПД; г — интерферон серия 126 2 ед/мл, вирус 100 ЦПД.

Условные обозначения: — опыт, - - - - контроль вируса; 0 — контроль ткани; — х — контроль интерферона.

торможена. При заражении 1000 ЦПД в тот же срок в препаратах наблюдались сплошь компактные ядра (гибель клеток).

Таким образом, вирус оказывал явно повреждающее действие на ядерный аппарат клеток.

Изучение влияния интерферона на клетки F1 в культуре ткани показало, что при наличии интерферона митотическая активность клеток повышается, что ясно видно на приводимых ниже графиках (рисунок). Однако при статистической обработке материала оказалось, что достоверное усиление митоза ( $T \geq 2$ ) отмечено толь-

ко в половине случаев. Возможно, различие в результатах зависит от концентрации интерферона.

При анализе защитного влияния интерферона в условиях опыта (интерферон+вирус) отмечено статистически достоверное защитное действие его, выражающееся в сохранении высокого уровня митотической активности клеток.

Результаты проведенного исследования показали, таким образом, что вирус везикулярного стоматита, штамм Индиана, вызывает повреждение ядерного аппарата клеток FI, снижая их митотическую активность и обуславливая характерные отклонения в стадиях деления, связанные с отставанием или потерей хромосом. Интерферон обладает способностью стимулировать процесс деления в культуре ткани и оказывает защитное влияние против повреждающего действия вируса везикулярного стоматита.

### Интерферогенная и антивирусная активность некоторых веществ природного происхождения

А. С. Дромашко, М. Г. Гайдамака. Харьков

Проблема использования в практических целях феномена интерферообразования в последние годы широко изучается. Наряду с некоторыми успехами в этом направлении, связанными с применением стандартных живых гриппозных вакцин А и В, полиомиелитной и других, а также различных химических соединений как индукторов эндогенного интерферона, были выявлены отрицательные свойства этих препаратов, а именно: оказалось, что вакцины обладают антигенными свойствами, химические же соединения токсичны или плохо растворимы.

Многие исследователи испытывали антивирусное действие гистонов — основных белков, выделенных из ядер клеток животного происхождения, причем было установлено, что в минимальных концентрациях они способны подавлять размножение вирусов гриппа птиц, гриппа типа А, полиомиелита, осповакцины и др. Установлено, что в механизме противовирусного действия гистонов важную роль играет блокирование ими биосинтеза РНК. Особый интерес представляет гамма-глобулин человеческой крови, широко применяемый для лечения различных вирусных заболеваний, механизм защитного действия которого мало изучен.

В задачу настоящего исследования входило изучение интерферогенной и антивирусной активности гистоноподобных веществ, выделенных из чеснока (ингибитор № 2) и из других растений и

веществ, издавна применяемых в народной медицине, активность которых не нашла еще экспериментального объяснения, таких как листья эвкалипта и прополис (ингибитор № 1). В таком же плане изучался гамма-глобулин человеческой крови (коммерческий препарат).

В опытах определения противовирусной активности веществ использовали вирусы гриппа А-2 1957 г., болезни Ньюкасл (NDV) и Сендай (960).

Первичное исследование веществ на наличие противовирусной активности проводили в реакции вирусной интерференции на культуре куриных фибробластов, клетках RH или Her2. После 3—4-часового контакта интерферогены удаляли, в культуру вносили поддерживающую среду и через 18—20 часов индикаторный вирус гриппа А-2 или NDV (100—1000—10000 ТЦД<sub>50</sub>).

Интерферон индуцировали у мышей путем внутрибрюшинного введения им индукторов. Пробы сывороток брали через 5, 7, 24, 48, 72 и 96 часов после введения препаратов и вносили их в культуру L-клеток. Концентрацию интерферона в крови мышей выражали в единицах на 1 мл сыворотки, исходя из ее конечного разведения, дававшего снижение гемадсорбирующей активности индикаторного вируса (Д — Сендай) на 50%. Активность индикаторного вируса определяли по методу количественной гемадсорбции (Finterg, 1964). Антивирусную активность веществ определяли по:

- а) наличие интерференции или ингибиции в тканевой культуре куриных фибробластов;
- б) появлению интерферона в сыворотке мышей, которым вводили индуктор;
- в) нейтрализации вируса NDV в культуре ткани;
- г) нейтрализации вируса гриппа А-2 Гонконг-69 в культуре, переживающей ткани хорионаллантоисных оболочек;
- д) защитному действию у белых мышей, получавших препараты и зараженных вирусом гриппа А-2;
- е) определению содержания интерферонов в 1 мл жидкости, извлеченной из матрасов.

Антивирусная активность гистоноподобного белка (ингибитора № 2), ингибитора № 1 (из прополиса), хлорофиллипта (препарата из листьев эвкалипта) и человеческого гамма-глобулина была изучена в отношении РНК-содержащих вирусов гриппа А-2 и болезни Ньюкасл.

Проведенные исследования показали, что вирус болезни Ньюкасл более чувствителен к ингибирующему действию исследуемых веществ. В культуре клеток куриных фибробластов, обработанных ими в концентрации (соответственно) 0,13—0,4—0,5—2,0 мг/мл

Угнетение репродукции вирусов гриппа А-2 и Ньюкасл гистопоподобным белком и другими веществами

Объект обработки	Вирусы в дозе ТЦД <sub>50</sub>	Ингибирующее действие веществ, мг/мл			
		ингибитора № 2	ингибитора № 1	гамма-глобулина	ИЗАВР-2
Культура клеток куриных фибробластов	Болезнь Ньюкасл 1000	0,13	0,4	0,5	2,0
	Грипп А-2/57 100	0,13	0,4	0,5	2,0

за 3 часа до заражения, возникала защита от 1000 ТЦД<sub>50</sub> вируса (таблица).

Регулярное подавляющее действие ингибиторов № 1, № 2 и гамма-глобулина было выявлено также в пяти аналогичных опытах в отношении 100 ТЦД<sub>50</sub> вируса гриппа А-2. Исключение составлял хлорофиллипт, обработка клеток которым не обуславливала защиты даже от минимальных доз вирусов Ньюкасл и гриппа А-2.

В серии опытов было проведено определение содержания интерферона в культуральной жидкости через 5, 7, 24, 48, 72 и 96 часов после предварительного трехчасового контакта ингибиторов № 1, № 2 и человеческого гамма-глобулина с культурой клеток Нер-2. Проведенные исследования показали, что культуральная жидкость, взятая через 48 и 72 часа, предупредила цитопатогенное действие вируса болезни Ньюкасл при внесении 1000 ТЦД<sub>50</sub> вируса. **Полученный эффект вряд ли можно объяснить только наличием интерферона в культуральной жидкости, по-видимому, однократная промывка ткани средой полностью не удаляла наносимые на ткань вещества.**

Определение интерферогенной активности изучаемых веществ проводилось в опытах на белых мышах. Исследуемые вещества вводили внутривенно мышам весом 14—16 г в следующих дозах: ингибитор № 1 0,2 мг, ингибитор № 2 0,13 мг, гамма-глобулин 0,2 мг.

Динамику образования интерферона у мышей определяли по наличию его в сыворотке крови животных через 5, 24, 48, 72 и 96 часов в культуре L-клеток. Полученная в разные сроки сыворотка крови животных, которым вводили ингибиторы № 1 и № 2, вызвала снижения гемадсорбирующей активности индикаторного вируса (Сендай). Только сыворотка, полученная от животных через 24—48 часов после введения человеческого гамма-глобулина, содержала до 320 ед/мл интерферона.

Таким образом, указанные вещества (кроме гамма-глобулина), обладая выраженным ингибирующим свойством *in vitro* в культуре ткани, не вызывали образования интерферона в организме белых мышей. Гамма-глобулин человеческой крови ингибировал репродукцию вирусов как в культуре ткани, так и в организме животных. Ингибиторы № 1 и № 2 в реакции нейтрализации на культуре переживающей ткани хорионаллантоисных оболочек нейтрализовали 10 инфекционных доз вируса гриппа А-2 Гонконг 4780/69.

Полученные данные послужили основанием для составления из ингибиторов № 1 и № 2, обладающих противовирусным действием, комплексного аэрозольного препарата, названного ИЗАВР-2. Этот препарат в дозе 2 мг/мл защищал культуру клеток куриных фибробластов от 1000 ТЦД<sub>50</sub> вируса болезни Ньюкасл и 100 ТЦД<sub>50</sub> вируса гриппа А-2. Препарат, так же как и ингибиторы, входящие в его состав, не обладал способностью индуцировать образование интерферона в организме мышей. Сыворотка крови, полученная через 5, 24, 48 и 72 часа от мышей, которым вводили 2 мг препарата ИЗАВР-2, не вызывала снижения гемадсорбирующей активности вируса Сендай. Что касается антибактериальной активности изучаемых препаратов, то следует отметить бактерицидное действие 2,5% раствора ингибитора № 1 в отношении стафилококков и стрептококков.

В серии опытов на белых мышах была изучена профилактическая активность ингибитора № 1 и ИЗАВР-2. С этой целью препараты вводили однократно интраназально мышам весом 12—14 г за 6, 48, 67 часов до заражения вирусом гриппа А-2/57 (адаптированного к мышам).

Профилактический эффект наблюдали при введении ингибитора № 1 и ИЗАВР-2 в дозе 0,01 мл за 48—67 часов до заражения вирусом гриппа А-2. Эти вещества защищали мышей от одной смертельной дозы вируса гриппа А-2.

Результаты изучения антивирусной активности веществ, выделенных из высших растений, а также гамма-глобулина человеческой крови свидетельствуют об их выраженной способности создавать защиту клеток культуры ткани от 100—1000 ТЦД<sub>50</sub> вируса болезни Ньюкасл, 100 ТЦД<sub>50</sub> вируса гриппа А-2/57.

Ингибитор № 1 и ИЗАВР-2 обладали некоторым нейтрализующим эффектом в отношении вируса гриппа в культуре ткани, что защищало организм белых мышей от одной смертельной дозы вируса гриппа А-2/57 в профилактическом опыте. Гамма-глобулин как индуктор интерферона выгодно отличается своей способностью индуцировать образование его в организме животных, в то время как другие вещества обуславливают противовирусную защиту

только при непосредственном контакте с тканью. В целом результаты проведенных исследований позволяют сделать вывод о возможности использования изучавшихся веществ для профилактики и лечения гриппа.

### Десенсибилизирующее действие препаратов крови и их влияние на показатели неспецифического иммунитета при вирусных ОРЗ у детей

*А. С. Дромашко, Т. К. Набухотный. Харьков*

Грипп и другие острые респираторные инфекции часто сопровождаются поздними осложнениями. В генезе возникновения последних играет важную роль снижение неспецифического иммунитета (Л. Я. Закстельская, 1954; Г. Н. Тебенчук, 1968; А. Д. Адо, 1963; И. Н. Алябьева с соавт., 1966; З. М. Михайлова, 1967).

Одной из основных причин, снижающих неспецифический иммунитет, является аллергия организма, развивающаяся при респираторных инфекциях у детей. При этом в качестве медиаторов аллергических реакций особое значение приобретают биогенные амины (гистамин, серотонин, медленно реагирующая субстанция и др.), уровень которых при указанных заболеваниях значительно нарушается (А. Д. Адо, 1961, и др.).

Возросшая в последние годы частота аллергических реакций у детей вызвала необходимость поисков средств их ингибиции. Помимо антигистаминных средств, в педиатрии широко применяются препараты крови (гамма-глобулин, плазма) и цельная кровь, антиаллергические свойства которых экспериментально обоснованы (В. А. Стригин, 1971; Н. В. Медуницын, 1971, и др.), но недостаточно изучены в клинике.

Целью настоящей работы явилось изучение количественных изменений биологически активных веществ и некоторых показателей неспецифического иммунитета у детей с вирусными респираторными инфекциями, в комплексном лечении которых применялись препараты крови (плазма, гамма-глобулин) и стероидные гормоны.

Состояние неспецифического иммунитета у наблюдаемых больных оценивалось по фагоцитарной активности лейкоцитов, фагоцитарному индексу и гистаминапектической способности сыворотки крови. Из биологически активных веществ определяли серотонин (биологическим методом) и гистамин (колориметрическим методом по Е. В. Горяченковой). Однотипную плазму или цельную кровь вводили внутривенно по 25—30 мл с интервалом 3—4 дня от 2 до 4 инъекций, а гамма-глобулин — внутримышечно до 1,5 мл

Показатели серотонина, гистамина и гистаминопексии плазмы крови у больных

Этиология заболевания и лечение	Количество обследованных	Серотонин, мкг/мл			
		острый период заболевания	t	после лечения	t
Гриппозная Антибиотики + плазма и $\gamma$ -глобулин	11	0,0349 $\pm$ 0,0024	1,0	0,0243 $\pm$ 0,0016	2,2
Парагриппозная Антибиотики + плазма и $\gamma$ -глобулин	8	0,0409 $\pm$ 0,0058	0,3	0,0320 $\pm$ 0,0024	1,3
Гриппозная Лечение только антибиотиками	7	0,0316 $\pm$ 0,002	1,4	0,0230 $\pm$ 0,003	2,3
Здоровые	22	0,044 $\pm$ 0,009			

через 3 дня от 3 до 5 инъекций. В комплексе лечения использовали также антибактериальные препараты, преимущественно антибиотики. Преднизолон применяли в общепринятых дозах.

Под наблюдением находилось 76 детей в возрасте от 3 месяцев до 3 лет. У 62 детей этиология респираторной инфекции была установлена серологическим и иммунофлюоресцентным методами. У 18 детей заболевание было обусловлено вирусами гриппа А<sub>2</sub> и В, у 12 — респираторно-синцитиальным, у 8 — парагриппозными вирусами 2-го и 3-го типов и у 8 — аденовирусами. У 16 больных наблюдалась смешанная вирусная инфекция и суперинфекция. Вирусная этиология заболевания у остальных детей установлена на основании клинико-эпидемиологических данных.

Тяжелое течение болезни было у 25 детей, средней тяжести — у 34 и легкое — у 17 больных. У 18 детей имелся в анамнезе высокий инфекционный индекс или заболевание протекало с астматическим синдромом. Респираторная инфекция у всех обследованных детей, как правило, сопровождалась двусторонней пневмонией, а у 17 детей развились поздние осложнения (гнойный отит, стоматит, пиелонефрит, стафилококковая пневмония).

Наиболее показательные и достоверные результаты дали исследования изменений серотонина, гистамина и гистаминсвязывающей способности плазмы крови у детей, больных пневмонией гриппозной этиологии, леченных только антибиотиками и антибиотиками в сочетании с плазмой и гамма-глобулином (таблица).

Гистамин, $\text{мкг}\%$				ГПИ, %			
острый период заболевания	t	после лечения	t	острый период заболевания	t	после лечения	t
$24,7 \pm 3,5$	4,4	$19,0 \pm 3,25$	3,0	$4,7 \pm 1,9$	7,0	$14,9 \pm 1,7$	4,6
$20,5 \pm 3,6$	3,1	$14,0 \pm 2,8$	1,9	$10,6 \pm 2,9$	4,9	$18,7 \pm 1,3$	3,9
$30 \pm 3,6$	5,6	$25,7 \pm 3,4$	4,7	$5,1 \pm 2,9$	6,6	$11,7 \pm 2,4$	5,5
$9 \pm 0,85$				$34,9 \pm 3,5$			

Представленные в таблице данные свидетельствуют о том, что в разгар пневмонии плазма крови связывает добавленный к ней гистамин в 6,8—7,4 раза меньше ( $5,1 \pm 2,9$  и  $4,7 \pm 1,9\%$ ), чем плазма здоровых детей ( $34,9 \pm 3,5\%$ ). Снижение гистаминопексии плазмы крови в этот период совпадало с увеличением содержания в ней гистамина (соответственно  $30 \pm 3,6$  и  $24,7 \pm 3,5 \text{ мкг}\%$ ). Что касается серотонина, то уже в остром периоде заболевания уровень его несколько снижался ( $0,0316 \pm 0,002$  и  $0,0349 \pm 0,0024 \text{ мкг/мл}$  соответственно) по сравнению с показателем у здоровых детей ( $0,044 \pm 0,009 \text{ мкг/мл}$ ).

Однако в тех случаях, когда лечение пневмонии гриппозной этиологии проводили только антибиотиками, гистаминсвязывающая способность плазмы крови после лечения была ниже ( $11,7 \pm 2,4\%$ ), чем у здоровых детей ( $34,9 \pm 3,5\%$ ) почти в 3 раза, а количество гистамина было в 2,8 раза выше контроля ( $9 \pm 0,85\%$ ). Серотонина в плазме крови больных детей было меньше ( $0,0230 \pm 0,003 \text{ мкг/мл}$ ), чем у здоровых ( $0,044 \pm 0,009 \text{ мкг/мл}$ ). Применение плазмы и гамма-глобулина в комплексе с антибиотиками препятствовало столь выраженным нарушениям указанных показателей. Так, гистаминопексия была меньше контрольной в 2,3 раза, а количество гистамина превышало его показатели у здоровых детей в 2,1 раза. Показатель серотонина был более высоким ( $0,0243 \pm 0,0016 \text{ мкг/мл}$ ), чем у больных, которых лечили только антибиотиками ( $0,0230 \pm 0,003 \text{ мкг/мл}$ ).

Таким образом, применение препаратов крови в комплексном лечении больных острыми респираторными инфекциями приводило к более быстрой нормализации показателей гистамина, гистаминапексического индекса и серотонина. Нормализация указанных показателей свидетельствовала о десенсибилизирующем действии препаратов крови, в результате чего происходило восстановление барьерной функции физиологических мембран.

Проведено также исследование влияния внутривенного введения одноклассной плазмы и цельной крови, а также стероидных гормонов на некоторые показатели неспецифического иммунитета при тяжелом течении вирусных респираторных инфекций у детей. С этой целью у 36 больных, леченных антибиотиками и препаратами крови, и у 20 детей, в лечении которых, кроме антибиотиков, применялся преднизолон в общепринятых дозах, определяли фагоцитарную активность лейкоцитов и фагоцитарный индекс. Исследования показали, что у детей, получавших препараты крови, фагоцитарная активность лейкоцитов и фагоцитарный индекс существенно не отличались от таковых у здоровых детей ( $37,5 \pm 1,04\%$  и  $6,1 \pm 0,61$ ) ни в остром периоде болезни ( $36,5 \pm 1,8\%$  и  $5,50 \pm 0,34$ ), ни в период репарации ( $36,0 \pm 3,4\%$  и  $5,85 \pm 0,44$ ). В то же время эти показатели были резко снижены у детей, в комплексное лечение которых входил преднизолон:  $22,0 \pm 3,2\%$  и  $4,44 \pm 0,52$  в остром периоде и  $13,6 \pm 5,0$  и  $3,38 \pm 0,55$  в период выздоровления, причем степень снижения их зависела от длительности применения гормона.

Полученные данные свидетельствуют о том, что применение стероидных гормонов при тяжелом течении респираторных инфекций приводит к длительному угнетению неспецифического иммунитета, что повышает вероятность возникновения осложнений. Применение плазмы и гемотрансфузий в лечении больных препятствует угнетению неспецифического иммунитета и служит надежной профилактикой поздних бактериальных осложнений.

Следовательно, в комплексном лечении тяжелых форм вирусных респираторных инфекций, осложнившихся пневмонией, в качестве специфического и десенсибилизирующего средства следует применять препараты крови; кроме того, стероидные гормоны целесообразно вводить под прикрытием плазмы и гемотрансфузий.

## Рефераты

УДК 616-002.5:611—018.51

К оценке иммунобиологического значения эритроцитов при туберкулезе. Дикий И. Л., Черкас Г. П. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 3.

В работе выдвигается гипотеза, что эритроцитам восприимчивого к туберкулезу организма принадлежит немаловажное защитно-приспособительное значение в этно-патогенетической корреляции всех стадий развития туберкулезного процесса.

Это касается как возможности их влияния на усиление неспецифических факторов противотуберкулезного иммунитета, так и непосредственного участия в определении направленного иммунологического ответа организма на этиологический фактор туберкулеза.

УДК 616-002.5:611-018.51:547.466

Количественный сдвиг аминокислот в эритроцитах морских свинок, вакцинированных микобактериальным штаммом БК-Харьков. Черкас Г. П., Дикий И. Л., «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 17.

Показано, что вакциногенный контакт восприимчивых к туберкулезу животных с микробными особями апатогенного и слабовирулентного штамма БК-Харьков закономерно сопровождается количественной перестройкой аминокислотной характеристики эритроцитов. Этот эффект в своей биохимической основе наиболее вероятно связан с внутриэритроцитарным проникновением микобактериальных аминокислот и жирных кислот, первоначально адсорбированных на поверхности эритроцита.

Таблиц — 2.

УДК 576.851.46:576.8.097

К вопросу об оценке эффективности растворимых параклоушных антигенов. Верезуб Л. Г., Добжинская М. Г. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 23.

Представлены данные изучения фагоцитарной активности клеток интраперитонеальной жидкости мышей, иммунизированных адсорбированным параклоушным растворимым антигеном, а также двумя фракциями последнего, полученными при гельфильтрации через сефадекс G-100.

Наиболее высокие показатели фагоцитарной активности с выраженной интенсивностью фагоцитарного процесса отмечены в клетках перитонеальной жидкости животных, иммунизированных препаратами, обладающими высокой иммунизирующей активностью.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что при оценке эффективности растворимых параклоушных антигенов, наряду с показателями

специфической активности этих препаратов, целесообразно также учитывать и такой показатель неспецифической реактивности организма, как фагоцитоз.

Таблиц — 1.

УДК 576.851.46:576.8.097.32

**Характеристика гистаминсенсibiliзирующих и анафилактических свойств параклоушных антигенов и его фракций.** Вереzub Л. Г., Лейбова И. М. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 28.

Представлены данные изучения гистаминсенсibiliзирующих и анафилактических свойств параклоушных растворимых антигенов и их фракций, полученных методом гельфильтрации через сефадекс Г-100. Показано, что испытанные препараты не обладают гистаминсенсibiliзирующими свойствами. Изучение состояния углеводного обмена в крови мышей указанными препаратами позволило подтвердить данные других исследователей, свидетельствующие о связи между углеводным обменом и чувствительностью организма к гистамину. Анафилактические свойства растворимых параклоушных антигенов и его фракций выражены в различной степени.

Таблиц — 2.

УДК 616.921.8-084.47

**Клинико-эпидемиологические особенности заболеваемости коклюшем у иммунизированных АКДС-вакциной во Львове.** Кулик З. Д., Беккер А. А., Давыдова И. С. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 33.

Показано, что во Львове при иммунизации детей АКДС-вакциной заболеваемость коклюшем за три года снизилась в три раза. В то же время отмечено возможное снижение напряженности иммунитета к коклюшу.

Таблиц — 4.

УДК 616.921.8:616.9-084.47

**Некоторые иммунологические данные у привитых коклюшными вакцинами в Харькове.** Вельвовская Р. И., Добжинская М. Г., Никитина Р. К., Грисберг Ф. Г. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 36.

Показано, что заболевания у привитых возникают спустя 1—2 года после последней вакцинирующей или ревакцинирующей прививки. При изучении состояния противоклоушного иммунитета в реакции агглютинации установлено, что антитела имеют низкие титры либо отсутствуют более чем в половине сывороток крови обследованных; нарастание титров антител в 4—16 раз отмечено в 12,3% сывороток. Высокие титры сывороток в поздние сроки после иммунизации в ряде случаев, возможно, обусловлены перенесенным в стертой форме заболеванием.

Таблиц — 2.

УДК 576.852.23:611-018.54

**О бактерицидных свойствах сыворотки крови носителей нетоксигенной дифтерийной палочки.** Голодюк Л. Ф., Манина Ж. Н., Розина Ц. С. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 39.

Изучалась бактерицидная активность 237 проб сыворотки крови от 156 носителей нетоксигенных штаммов дифтерийной палочки (139 детей, привитых против дифтерии согласно возрасту, и 17 взрослых).

Установлено, что сыворотка крови 16% носителей обладала бактерицидной активностью в отношении токсигенного штамма и одинаковой активностью в отношении нетоксигенной дифтерийной палочки и аутоштаммов (8,0 и 4,2%), но затем активность сыворотки снижалась. Высказано предположение о том,

что бактериолизины решающей роли в освобождении организма от носительства не играют.

Таблиц — 3.

УДК 616.931-097

Об использовании РПГА для изучения противодифтерийного иммунитета. Манина Ж. Н., Черненко В. Д. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 45.

Предварительные данные, полученные на животных, иммунизированных дифтерийным анатоксином и обследованных в различные сроки после иммунизации, показали, что только в двух пробах сыворотки крови уровень анитоксина соответствовал уровню гемагглютининов. Изучение противодифтерийного иммунитета при помощи РПГА и реакции Ремера у 180 подростков показало, что РПГА несколько более чувствительный метод, так как выявляет защитные титры в большем числе случаев. Несовпадение результатов реакций наблюдалось в 11,1% случаев. Для широкого внедрения в практику РПГА необходимо централизованное изготовление диагностикума со стабильными свойствами и четкая разработка оптимальных условий его применения.

Таблиц — 2.

УДК 576.852.23:576.809.7

Материалы изучения соматических антигенов дифтерийной палочки, полученных фенольным методом. Горисюк А. Ф. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 48.

Из микробной массы производственного вирулентного дифтерийного штамма RW-8, вариант Вейсензее, и авирулентного дифтерийного штамма 40, выделенного от бактерионосителя, получены фенольным методом серологически активные антигенные фракции — фракция кислых белков и так называемые соматические субстанции.

Сенсибилизация формализированных, обработанных таннином бараньих эритроцитов выделенными соматическими субстанциями позволяет получить диагностикумы, с помощью которых можно изучать иммунологические сдвиги в сыворотках крови носителей дифтерийных палочек, в том числе и авирулентных.

Таблиц — 2, иллюстраций — 3.

УДК 576.852.23-097

Формирование противодифтерийного иммунитета при иммунизации кроликов соматическими антигенами дифтерийной палочки и дифтерийным анатоксином. Горисюк А. Ф., Голодюк Л. Ф. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 57.

Установлено, что при введении животным соматических антигенов, полученных фенольным методом из дифтерийных палочек, в сыворотке крови образуются антитела, которые удерживаются в течение непродолжительного времени. При этом под влиянием соматического антигена из авирулентной культуры формируется менее напряженный и менее продолжительный иммунитет, чем под влиянием соматической субстанции из вирулентной дифтерийной палочки.

При иммунизации дифтерийным анатоксином идет формирование, наряду с антитоксическим, и антибактериального иммунитета, который снижается после окончания иммунизации гораздо быстрее, чем антитоксический.

Иллюстраций — 1.

УДК 616.981.57-097

Взаимосвязь специфических и неспецифических факторов иммунитета при иммунизации комплексным препаратом против анаэробных инфекций. Зими-

на О. И., Исаева С. Я., Чернявский В. И., Полченко О. Т. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1963, стр. 62.

Установлено, что при активной иммунизации секстаанатоксином — комплексным препаратом против газовой гангрены, столбняка и ботулизма, в сыворотке крови экспериментальных животных увеличивается синтез антител с увеличением содержания белка.  $\beta$ - и  $\gamma$ -глобулиновых фракций. Особенно отчетливо выявлялась зависимость между суммарным количеством нуклеиновых кислот в иммунокомпетентных органах и тканях и наличием антитоксинов. Установленные закономерности приводят к выводу о целесообразности учета при разработке методов вакцинации не только специфических, но и неспецифических факторов иммунитета.

Таблиц — 2.

УДК 576.851.555-097.

**Динамика биохимических и иммунохимических свойств очищенного анатоксина *Cl. oedematiens* в процессе его изготовления.** Гольбец И. И., Казарова Т. А., Орлова Г. Л., Пресман Т. П., Гудзенко К. А. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 66.

Изучены гидролизаты казенна, питательные среды, изготовленные на их основе, и полученные в этих средах токсины. Показано, что в процессе токсинообразования происходит перегруппировка азотистых соединений. Показана эффективность очистки анатоксинов одноэтапным методом при pH 3,6—3,8 и промывании осадка подкисленной дистиллированной водой. Этим методом очищено 36 производственных серий нативного анатоксина и получено 200 тыс. доз сорбированного анатоксина с хорошей иммуногенностью.

Методом гель-фильтрации и иммунопреципитации выявлен сложный белковый состав очищенных анатоксинов. Установлено, что активные белки элюируются в высокомолекулярной фракции (м. в. >100 000).

Таблиц — 4, иллюстраций — 4.

УДК 576.851.555-098

**Изучение лейкотоксического эффекта при интоксикации, вызванной токсином *Cl. oedematiens*.** Головатюк А. Л. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 76.

В опытах на морских свинках выявлено угнетение фагоцитарной активности лейкоцитов под влиянием токсина *Cl. oedematiens* в первые часы развития интоксикации и в течение нескольких дней после введения токсина. Лейкотоксическое действие не всегда сопровождалось уменьшением фагоцитарной активности крови вследствие развития выраженного лейкоцитоза. Под влиянием добавленной *in vitro* специфической анитоксической сыворотки фагоцитарная активность лейкоцитов в отдельных случаях восстанавливалась, что становилось закономерным в период выздоровления животных.

УДК 576.851.555-098

**Изучение лейкотоксина *Cl. oedematiens* типа А при гelfильтрации на сефадексе Г-100.** Головатюк А. Л., Протченко П. З. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 79.

При разделении сухого токсина *Cl. oedematiens* типа А на колонке с сефадексом Г-100 получена фракция белков с молекулярным весом свыше 100 000 и низкомолекулярная фракция. Летальная, некротическая и лейкотоксическая активность, определенная по подавлению фагоцитоза и снижению числа нейтрофилов, обнаруживалась в высокомолекулярной фракции.

Иллюстраций — 1.

576.851.555:576.8.097.2

Значение некоторых функциональных групп аллергена *Cl. perfringens* типа А в проявлении биологической активности. Старобинцев З. Г. «Вакцина и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 84.

Изучено влияние дезаминирования, ацетилирования, формалинизирования и йодирования на проявление специфической активности аллергена *Cl. perfringens* типа А. Показано, что аллергенная активность препарата зависит от содержания в нем свободных амниогрупп и фенольных групп циклических аминокислот.

Таблиц — 1.

УДК 576.851.555:576.8.097.2

Характеристика биологической активности аллергена *Cl. perfringens* типа А. Калининченко Н. Ф., Подгорная Л. Г. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 87.

В экспериментах на лабораторных животных изучались сенсибилизирующие свойства микробных тел *Cl. perfringens* типа А и активность гомологичного аллергена. При внутрикожном введении аллергена сенсиблизованным животным разрешающая доза его, вызывающая реактивные изменения в коже, была в пять и более раз меньше, чем для интактных. Интенсивность аллергических реакций замедленного типа у животных, сенсиблизованных микробными телами *Cl. perfringens*, зависела от количества микробных тел и времени, прошедшего с момента сенсибилизации.

Оптимальные условия для проявления гиперчувствительности к *Cl. perfringens* — введение 40—60 млрд. микробных тел через 15—30 дней после сенсибилизации.

Таблиц — 1, иллюстраций — 1.

УДК 576.851.553:576.8.097.29

Лейкотоксическая и летальная активность токсина ботулизма типа А при разделении на сефадексе Г-200. Целух А. В., Протченко П. З. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 91.

Производили разделение сухого токсина ботулизма типа А на колонке с сефадексом Г-200. Лейкотоксическая и летальная активность сопутствовали друг другу и определялись в высокомолекулярной и промежуточной фракциях.

Таблиц — 1, иллюстраций — 1.

УДК 615.779.925

Разработка условий получения концентрированных препаратов колицинов шигелл Зонне. Емельянова О. И., Лейбова И. М. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 95.

При изучении колициногенности 700 штаммов шигелл Зонне, выделенных от больных, установлено, что это свойство присуще 82,4% культур. Шигеллы Зонне обладают свойством продуцировать колицины не только в плотных, но и в жидких питательных средах. В результате проведенных исследований определены условия закономерного получения, очистки и концентрации колицинов шигелл Зонне. Активность препарата достигала 5120 условных единиц. Полученный препарат хорошо сохраняется при лиофильном высушивании.

Таблиц — 3.

УДК 615.779.925

Определение типового состава колицинов, продуцируемых шигеллами Зонне, с помощью антиколициновых иммунных сывороток. Емельянова О. И. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 102.

Показаны антигенные свойства очищенных концентрированных препаратов колицинов шигелл Зонне, к которым получены активные иммунные антиколициновые сыворотки, нейтрализующие их антибактериальное действие. С помощью приготовленных сывороток произведена идентификация колицинов шигелл Зонне по международной классификации. Обнаружена множественная колициногенность у штаммов шигелл Зонне. Таблиц — 3.

УДК 615.779.925

**Колициногенные и вирулентные свойства кишечных палочек, выделенных у больных дизентерией Зонне.** Жебракова М. Г. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 107.

Установлено наличие вирулентных штаммов среди кишечных палочек, изолированных у больных дизентерией. Показано, что кишечные палочки, выделенные у здоровых детей, обладают большей колициногенностью, чем кишечные палочки, изолированные у больных дизентерией, подтвержденной и неподтвержденной бактериологически. При совместном культивировании колициногенных и неколициногенных эшерихий и шигелл Зонне и Флекснера установлено антагонистическое действие кишечных палочек (колициногенных и неколициногенных) на шигеллы Флекснера и более слабое или отсутствие действия на шигеллы Зонне.

Таблиц — 4.

УДК 615.779.934

**Влияние сыворотки и других ингредиентов крови на антибактериальную активность хлорофиллипта.** Надтока В. Л. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 112.

Показано, что на антибактериальную активность хлорофиллипта в опытах *in vitro* оказывают некоторое угнетающее действие эритроциты, альбумин и сыворотка крови, а гамма-глобулин и соли сыворотки крови, напротив, несколько усиливают его антибактериальную активность.

Таблиц — 8.

УДК 615.779.934.

**Терапевтическая эффективность хлорофиллипта при экспериментальной стафилококковой инфекции.** Надтока В. Л. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 119.

Показана терапевтическая эффективность хлорофиллипта при экспериментальной стафилококковой инфекции у белых мышей, а также при конъюнктивите у кроликов, вызванном коагулазонегативными стафилококками. Наиболее эффективным было внутривенное введение препарата.

В экспериментах на модели стафилококкового сепсиса показана способность хлорофиллипта оказывать профилактическое действие: внутривенное предварительное введение препарата обеспечивало выживаемость 90—100% белых мышей.

Таблиц — 5.

УДК 576.851.252

**Содержание антистафилолизина в молоке женщин, привитых стафилококковым анатоксином.** Валковцы А. А. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 127.

Приведены данные о содержании стафилококкового альфа-антитоксина в молоке матерей, привитых и непривитых очищенным адсорбированным стафилококковым анатоксином. При исследовании 438 проб молока, взятых от 198 матерей, установлено, что в первые дни лактации в молоке в большинстве случаев содержатся антитела, нейтрализующие стафилококковый альфа-

токсина. Активная иммунизация беременных способствует значительному повышению содержания альфа-антитоксина, частоты и длительности его обнаружения, а также уровня антител.

Таблиц — 3.

УДК 616.988-21-097

Влияние конкуренции антигенов и вида пассивно введенных антител на эффективность пассивно-активной иммунизации против бешенства. Моргунов И. Н., Лисянский Н. И. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 130.

На основании проведенных исследований сделан общий вывод, что подавление активного синтеза антител обусловлено конкуренцией между антигенами вакцины и гамма-глобулина как антигена и нейтрализацией антигенов вакцины пассивно введенными антителами. Это приводит к ослаблению антигенного раздражения организма вакциной.

Таблиц — 4.

УДК 616.988.13:636.2

Действие осповакцины на хромосомный аппарат клетки. Фролов А. К., Сохин А. А., Фролов В. К. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 135.

Изучались хромосомные aberrации, ассоциации акроцентрических хромосом и титр антител у ревакцинированных осповакциной с давним сроком предшествовавшей прививки. Отмечено снижение среднего количества ассоциаций на клетку за счет клеток с 2—4 ассоциациями при увеличении количества клеток с одной ассоциацией. Высказано предположение о том, что одним из механизмов угнетения метаболизма клеток и их пролиферации является нарушение спирализации хромосом, формирования общего ядрышка и синтеза р-РНК.

Таблиц — 6.

УДК 576.858.75

Изучение эпидемиологической эффективности живой гриппозной пероральной вакцины. Романов Н. В., Альтерман Б. Я., Архипова К. Н., Беккер А. А., Лапид А. А., Мамай В. С., Няга Г. А., Романова Н. Н., Шубенко Л. Е. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 141.

Показано преимущество живой гриппозной пероральной вакцины перед интраназальной гриппозной вакциной. Установлено, что пероральная вакцина снижает заболеваемость гриппом и ОРЗ в различной эпидемиологической обстановке, причем эффективность отдаленной вакцинации находится в прямой зависимости от степени соответствия антигенного состава вакцины антигенной структуре вирусов гриппа, циркулирующих среди населения.

Таблиц — 3, иллюстраций — 1.

УДК 576.858.23

Эффективность вакцинации ЖВС в одном из детских коллективов Харькова. Батуева Т. Ф., Иванова Р. Б., Никитина Р. К., Носатенко А. И. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 146.

Проведенное исследование подтвердило определенное неблагоприятное влияние иммунологическом состоянии детей к полиомелиту и показало необходимость дальнейших наблюдений в этом направлении.

Таблиц — 4.

УДК 576.858.23

**Интерферогенные свойства живых энтеровирусных вакцин ЖЭВ-4, ЖЭВ-5 и ЖЭВ-7.** Швецкая Б. Д., Грунговская Л. Г., Волчанецкая Г. И., Носатенко А. И. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 151.

Установлено, что применение всех трех вакцин экономически выгодно, легко осуществимо и является эффективным способом снижения заболеваемости энтеровирусными и респираторными заболеваниями, т. е. наиболее массовыми заболеваниями человека.

Таблиц — 1, иллюстраций — 1.

УДК 615.371:616.915-616.912

**Влияние вакцин на организм детей по данным клинико-биохимического и иммунологического исследований.** Медведева В. В., Кулаженко Н. И. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 154.

Представлены результаты изучения реактогенности различных вакцин по данным клинических наблюдений за реакциями, определения морфологического состава крови и РОЭ, соотношения белковых фракций, С-реактивного белка. Показано, что изменения в белковом составе крови в организме привитых происходят во время поствакцинальных реакций и отражают реактогенность вакцин. Наиболее существенное влияние на организм оказывает первичная иммунизация оспенной вакциной, а также коревой при прививках в раннем возрасте.

УДК 615.373.3

**Использование сгустков крови для дополнительного получения антител при производстве агглютинирующих сывороток.** Чаплинский В. Я., Крылова В. П., Сотников В. С., Пособилова Ж. И. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 158.

Показано, что в сгустках крови содержатся различные белковые фракции сыворотки крови, в том числе антитела-агглютинины, которые можно легко экстрагировать с помощью 1% раствора поваренной соли при температуре +4—6°. Дополнительное извлечение антител из сгустков крови позволяет на 5—6% увеличить получение исходного сырья при производстве агглютинирующих сывороток.

Таблиц — 2.

УДК 582.28:576.8.097

**Методика получения антигенов из Candida с помощью ультразвука и их биохимический анализ.** Бидненко С. И. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 161.

Работа посвящена получению антигенов для серологических реакций из Candida с помощью ультразвуковой дезинтеграции. Показано, что оптимальным является озвучивание (частота 800 кГц, мощность 4,5—5 Вт/см<sup>2</sup>) 100 мл взвеси двухсуточной культуры Candida, выращенной на сусло-агаре при 37° в дистиллированной воде (концентрация 30 мг влажной массы в 1 мл) в течение 3 часов при постоянном охлаждении с последующим центрифугированием (30 минут) при 6,5 тыс. об/мин и лиофилизацией надсадка. Полученные антигенные препараты являются сложными комплексами глюкотеидной природы и содержат около 40% углеводов и 12—13% белка. При испытании УЗ кандидозных антигенов в РСК и РНГА выявлена их высокая активность в этих реакциях.

Таблиц — 2.

УДК 576.807.8

Получение и изучение сухого лецитовителлина. Калининченко Н. Ф., Старобинец З. Г., Подгорная Л. Г., Бирюкова С. В. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 165.

Для диагностических целей разработана технология приготовления сухого лецитовителлина из желтков куриных яиц путем эмульгирования их в стабилизаторе и лиофильного высушивания. Сухой лецитовителлин пригоден для определения лецитиназы С в фильтрах культур *St. perfringens*, а также для определения указанного микроорганизма и стафилококка.

Таблиц — 3.

УДК 615.779.935

К вопросу о механизме действия интерферона. Степанюк Т. И. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 170.

Установлено, что вирус везикулярного стоматита вызывает повреждение ядерного аппарата клеток F1, снижая их митотическую активность и обуславливая характерные отклонения в стадиях деления, связанные с отставанием или потерей хромосом. Интерферон стимулирует процесс деления в культуре ткани и оказывает защитное влияние против повреждающего действия вируса везикулярного стоматита.

Иллюстраций — 1.

УДК 615.779.935

Интерферогенная и противовирусная активность некоторых веществ природного происхождения. Дромашко А. С., Гайдамака М. Г. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 173.

Представлены результаты испытания веществ природного происхождения на наличие ингибитора в культуре ткани, появление интерферона в сыворотке крови после внутрибрюшинного введения животным, нейтрализации вирусов гриппа А-2, Ньюкасл и Сендай в первичной или перевиваемой культуре ткани. Исследованы также нейтрализация вируса гриппа А-2 в культуре, переживающей ткани хориоаллантоисных оболочек и защитное действие препаратов у белых мышей, зараженных вирусом гриппа А-2. Установлено, что угнетающее действие на испытанные вирусы оказывают ингибитор № 1 (выделенный из прополиса), ингибитор № 2 (из чеснока), смесь антибиотиков высших растений (ИЗАВР-2) и человеческий гамма-глобулин.

Таблиц — 1.

616.988.7-097

Десенсибилизирующее действие препаратов крови и их влияние на показатели неспецифического иммунитета при вирусных ОРЗ у детей. Дромашко А. С., Набухотный Т. К. «Вакцины и сыворотки», вып. 7. К., «Здоров'я», 1973, стр. 177.

В работе показано десенсибилизирующее действие препаратов крови, вызывающееся в нормализации показателей гистамина, гистаминопексического индекса и серотонина, а также отмечено благоприятное воздействие указанных препаратов на показатели неспецифического иммунитета при комплексном лечении вирусных ОРЗ у детей.

Таблиц — 1.

## Содержание

Дикий И. Л., Черкас Г. П. К оценке иммунобиологического значения эритроцитов при туберкулезе	3
Черкас Г. П., Дикий И. Л. Количественный сдвиг аминокислот в эритроцитах морских свинок, вакцинированных микобактериальным штаммом БК-Харьков	17
Верезуб Л. Г., Добжинская М. Г. К вопросу об оценке эффективности растворимых паракокклюшных антигенов	23
Верезуб Л. Г., Лейбова И. М. Характеристика гистаминсенсibiliзирующих и анафилактогенных свойств паракокклюшных антигенов и его фракций	28
Кулик З. Д., Беккер А. А., Давыдова И. С. Клинико-эпидемиологические особенности заболеваемости коклюшем у иммунизированных АКДС-вакциной во Львове	33
Вельвовская Р. И., Добжинская М. Г., Никитина Р. К., Грисберг Ф. Г. Некоторые иммунологические данные у привитых коклюшными вакцинами в Харькове	36
Голодюк Л. Ф., Манина Ж. Н., Розина Ц. С. О бактерицидных свойствах сыворотки крови носителей нетоксигенной дифтерийной палочки	39
Манина Ж. Н., Черненко В. Д. Об использовании РПГА для изучения противодифтерийного иммунитета	45
Горисюк А. Ф. Материалы изучения соматических антигенов дифтерийной палочки, полученных фенольным методом	48
Горисюк А. Ф., Голодюк Л. Ф. Формирование противодифтерийного иммунитета при иммунизации кроликов соматическими антигенами дифтерийной палочки и дифтерийным анатоксином	57
Зими́на О. И., Исаева С. Я., Чернявский В. И., Полченко О. Т. Взаимосвязь специфических и неспецифических факторов иммунитета при иммунизации комплексным препаратом против анаэробных инфекций	62
Гольбец И. И., Казарова Т. А., Орлова Г. Л., Пресман Т. П., Гудзенко К. А. Динамика биохимических и иммунохимических свойств очищенного анатоксина <i>C1. oedematiens</i> в процессе его изготовления	66
Головатюк А. Л. Изучение лейкотоксического эффекта при интоксикации, вызванной токсином <i>C1. oedematiens</i>	76
Головатюк А. Л., Протченко П. З. Изучение лейкотоксина <i>C1. oedematiens</i> типа А при гель-фильтрации на сефадексе Г-100	79
Старобинец З. Г. Значение некоторых функциональных групп аллергена <i>C1. perfringens</i> типа А в проявлении биологической активности	84
Калиниченко Н. Ф., Подгорная Л. Г. Характеристика биологической активности аллергена <i>C1. perfringens</i> типа А	87

Целух А. В., Протченко П. З. Лейкотоксическая и летальная активность токсоина ботулизма типа А при разделении на септадексе Г-200	91
Емельянова О. И., Лейбова И. М. Разработка условий получения концентрированных препаратов колицинов шигелл Зонне	95
Емельянова О. И. Определение типового состава колицинов, продуцируемых шигеллами Зонне, с помощью антиколициновых иммунных сывороток	102
Жебракова М. Г. Колициногенные и вирулентные свойства кишечных палочек, выделенных у больных дизентерией Зонне	107
Надтока В. Л. Влияние сыворотки и других ингредиентов крови на антибактериальную активность хлорофиллипта	112
Надтока В. Л. Терапевтическая эффективность хлорофиллипта при экспериментальной стафилококковой инфекции	119
Валковцы А. А. Содержание антистафилолизина в молоке женщин, привитых стафилококковым анатоксином	127
Моргунов И. Н., Лисяный Н. И. Влияние конкуренции антигенов и вида пассивно введенных антител на эффективность пассивно-активной иммунизации против бешенства	130
Фролов А. К., Сохин А. А., Фролов В. К. Действие осповакцины на хромосомный аппарат клетки	135
Романов Н. В., Альтерман Б. Я., Архипова К. Н., Беккер А. А., Ланида А. А., Мамай В. С., Няга Г. А., Романова Н. Н., Шубенко Л. Е. Изучение эпидемиологической эффективности живой гриппозной пероральной вакцины	141
Батуева Т. Ф., Иванова Р. Б., Никитина Р. К., Носатенко А. И. Эффективность вакцинации ЖВС в одном из детских коллективов Харькова	146
Швецкая Б. Д., Грунтовская Л. Г., Волчанецкая Г. И., Носатенко А. И. Интерферогенные свойства живых энтеровирусных вакцин ЖЭВ-4, ЖЭВ-5 и ЖЭВ-7	151
Медведева В. В., Кулаженко Н. И. Влияние вакцин на организм детей по данным клинико-биохимического и иммунологического исследований	154
Чаплинский В. Я., Крылова В. П., Сотникова В. С., Пособилова Ж. И. Использование сгустков крови для дополнительного получения антител при производстве агглютинирующих сывороток	158
Бидненко С. И. Методика получения антигенов из Candida с помощью ультразвука и их биохимический анализ	161
Калиниченко Н. Ф., Старобинец З. Г., Подгорная Л. Г., Бирюкова С. В. Получение и изучение сухого лецитовителлина	165
Стефанюк Т. И. К вопросу о механизме действия интерферона	170
Дромашко А. С., Гайдамака М. Г. Интерфероногенная и антивирусная активность некоторых веществ природного происхождения	173
Дромашко А. С., Набухотный Т. К. Десенсибилизирующее действие препаратов крови и их влияние на показатели неспецифического иммунитета при вирусных ОРЗ у детей	177
Рефераты	181

*Министерство здравоохранения УССР*

## ВАКЦИНЫ И СЫВОРОТКИ

Республиканский межведомственный сборник

В ы п у с к 7

Редактор издательства Л. А. Филова  
Оформление художника Г. Г. Головченко  
Художественный редактор Н. А. Сердюкова  
Технический редактор Д. А. Запольская  
Корректоры В. А. Вечера, В. П. Десятникова

---

БФ16353 Зак. 6182. Сдано в набор 20/VII 1972 г. Подписано к печати 6/XII 1972 г.  
Формат 60×84<sup>1/16</sup>. Тираж 1500. Уч.-изд. лист. 12,77. Физ. печ. лист. 12,0. Услови. печ. лист. 11,16.  
Бум. № 2. Цена 1 руб. 28 коп.  
Издательство «Здоров'я», г. Киев, ул. Кирова. 7.

---

4-я военная типография.

1 руб. 28 коп.

