

## АННОТАЦИЯ

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ИММУНИЗАЦИЯ СВИНЕЙ ПРОТИВ БОЛЕЗНИ ТЕШЕНА ВЫРАЩЕННЫМ В ТКАНЕВЫХ КУЛЬТУРАХ ВИРУСОМ, УБИТЫМ ФОРМАЛИНОМ

Ф. РАТОСКА — V. КУВЕЛКА — В. КОРУСН

Лаборатория специальной микробиологии Карлова университета, Прага

Авторы проводили в 1954 году предварительные опыты по размножению вируса энзоотического энцефаломиеелита свиней в гомологичных тканях эмбрионов и в 1955 году подвергли вирус систематическому изучению по следующей типовой методике. Результаты первых экспериментов совместно с описанием цитопатогенных свойств вируса опубликованы в *Čs. EMI VI, 3, (1 и 11), 1957.*

В течение 1957 г. было накоплено большое количество вируса, выращенного в гомологичных тканях, в целях изготовления формализированной вакцины для экспериментальной активной иммунизации.

Вирус из тканевых культур, применявшийся в опытах, хранился в закрытых сосудах при температуре  $25^{\circ}$  ниже нуля.

На первом этапе опытов вирус из тканевых культур титровался на свиньях путем заражения их в таламическую область по 1 мл 10-кратных разведений вирусной суспензии. Предварительно было установлено, что вирусная суспензия, разведенная в  $10^{-1}$  приводит к смертельным параличам при внутримозговом введении по истечении очень короткого инкубационного периода в 5—7 дней.

Результаты титрования приведены в следующей таблице.

Концентрация вируса	ТК $10^{-2}$	ТК $10^{-3}$	ТК $10^{-4}$	ТК $10^{-5}$	ТК $10^{-6}$
Количество зараженных свиней	3	3	3	3	3
Патологические симптомы выявлены у	3	2	2	1	0

Производя вычисление по Риду и Менчу установили, что титр вируса из тканевых культур при интрацеребральном введении равен  $LD_{50} = 10^{-4,25}$ .

Ввиду того, что  $LD_{50}$  вирусной суспензии инфицированного спинного мозга, примененного для заражения тканевых культур, составлял  $10^{-3,1}$ , становится очевидным, что размножение вируса в тканях происходит на один порядок интенсивнее. Следовательно, можно допустить, что антиген из тканевых культур будет более эффективен при активной иммунизации.

Пробное сравнение величины цитопатогенного эффекта с вышеустановленным титром инфекциозности показало, что цитогенный эффект является более чувствительным индикатором небольших количеств вируса, поскольку он выявлялся (хотя и неполностью) при концентрации  $10^{-5}$ .

Инфекциозность титруемого вируса при интраназальном введении изучалась в трех последовательных экспериментах. 200 внутримозговых  $LD_{50}$ , введенных интраназально, вызвали симптомы смертельного паралича по прошествии инкубационного периода в 11 дней; 500  $LD_{50}$  вызвали те же явления через 9 дней у двух животных.

50 мл вирусной суспензии вышеупомянутого титра было инактивировано формальдегидом при  $37^{\circ}C$  в течение 12 дней по методу, применяемому при изготовлении вакцины против полиомиелита людей.

По истечении 12 дней инаktivация была прервана и остаток формальдегида был блокирован бисульфитом натрия. Кроме этого, в ходе процесса инаktivирования была определена кривая инаktivации.

Безопасность вакцины была проверена на гомологичных тканевых культурах и на четырех подопытных животных. Двум из них был введен 1 мл вакцины в таламическую область, двум другим ввели интраназально по 2 мл. Цитопатогенный эффект был полностью отрицательным, все четыре животных остались здоровыми в течение всего периода наблюдения, продолжавшегося 35 дней, что свидетельствовало о надежной инаktivации вакцины.

В последней стадии экспериментов было иммунизировано внутримышечно восемь свиней 2 мл убитого формалином вируса, взвешенного в липоиде (по Freund'y). По прошествии 21 дня животные получили вторую инъекцию — 2 мл вакцины без липоидного депо. Ни вакцинация, ни ревакцинация не вызвали видимых клинических симптомов.

Через шесть недель после ревакцинации восемь иммунизированных и шесть контрольных животных были одновременно заражены интраназально примерно 400  $LD_{50}$  (расчеты по данным внутримозгового введения тканевых культур).

Типичные симптомы тяжелого паралича возникли у двух контрольных животных на десятый день после заражения, а у четверых — на десятый день. Заболевание подтверждено гистологически.

Из восьми иммунизированных животных признаки болезни Тешена появились у двоих на пятнадцатый день после заражения и у двоих — на

шестнадцатый. Четверо остальных животных (50%) в течение всего периода наблюдений, более 40 дней, не проявили никаких признаков заболевания.

По мнению авторов, описанный эксперимент, показывает иммуногенные свойства убитого формалином вируса, полученного из тканевых культур.

Окончательная оценка антигенных свойств вакцины, приготовленной упомянутым выше способом, и ее практическое применение затруднительны ввиду недостаточного количества животных, использованных в опытах.

Необходимо тщательно разрабатывать и модифицировать изготовление вакцины, время ее инактивирования, дозировку и схему вакцинации, для чего желательно провести еще ряд опытов.

Авторы также учитывают тот факт, что количество применяемого для заражения вируса при испытании напряженности иммунитета было во много раз больше наивысшего количества вируса, попадающего в организм животного при естественном инфицировании. Поскольку в опытах участвовало малое количество животных, употребление столь высокой дозы было необходимо для обеспечения гибели всех контрольных животных.

В свете своих ранних исследований по иммунологии и патогенезу паралича свиней, несмотря на изложенный выше удачный опыт, авторы, тем не менее считают, что полноценный иммунитет может быть получен только живым, сильно аттенуированным вирусом, сохранившим свою иммуногенность.

Статья поступила в редакцию 17. II. 1958.

Prof. dr. F. Patočka, Ústav pro lékařskou mikrobiologii,  
Praha 2, Studničkova 7, Československo

(Полный текст опубликован в Čs. EMI № 2, 1958 г.)