

ПРОУЧВАНЕ КОМПЛЕКСНОТО ПРИЛАГАНЕ НА ВАРИОЛНА ВАКСИНА И ТРИВАКСИНА НА ЗАЙЦИ

К. Я. Кузмов, П. Панайотов, Цв. Ганчева, П. Кокошаров, Р. Маринова,
Г. Капрелян, Л. Ничева, Л. Шикова, А. Панайотова

В нашата страна се провежда планоно имунизирание и реимунизирание на населението против вариола, кореман тиф, паратиф Б и тетанус. За целта се използват суха жива вариолна ваксина и триваксина против кореман тиф, паратиф Б и тетанус (тетаничен анатоксин преципитат). Триваксината се прилага през второто, а вариолната през второто и четвъртото тримесечие на годината.

По литературни данни (1, 3, 7) вариолната ваксина може да се прилага едновременно с ваксината НИИСИ, триваксината (против кореман тиф, паратиф А и Б) и тетраваксината (против кореман тиф, паратиф Б, дизентерия Флекснер и Зоне), като към всяка една от тях може да се прибави и нативен тетаничен анатоксин. Едновременното прилагане на вариолната ваксина с триваксината би се отразило благоприятно върху организирането и по-бързото провеждане и своевременно противоепидемично осигуряване на населението против вариола.

Ние си поставихме за цел да проверим възможността за комплексно (едновременно, но разделно) прилагане на вариолна ваксина с първа или втора инжекция триваксина — преципитат, чрез проследяване измененията в имунологичното преустройство на организма у зайци, едни от които имунизирани само с един вид от ваксините, а други — комплексно. Като показател за степента на имунологичното преустройство на организма на зайците използвахме динамиката на титъра на специфичните антитела (на О- и Н-аглютинините за кореман тиф и паратиф Б, на антихемоаглютинините, на тетаничния антитоксин) и комплемента. При ориентирането ни към тези показатели се ръководехме и от литературните данни. Някои автори считат, че има определена корелация между титъра на аглютинините и антитоксина, от една страна, и защитните сили на серумите при имунизирание с чревните ваксини и тетаничен анатоксин, от друга (2, 6); други подчертават титъра на антихемоаглютинините като надежден показател за уредна на имунитета против вариола (4, 5) и пр.

Материал и методика

За проучването използвахме 40 заека, разпределени в 5 групи по 8. Групите се съставиха от приблизително еднакви по раса, тегло и по възраст зайци и се имунизираха, както следва:

1 група — с вариолна ваксина;

II група — с вариолна ваксина и 0,5 мл триваксина, а след 30 дни — 1 мл триваксина;

III група — 0,5 мл триваксина, а след 30 дни вариолна ваксина и 1 мл триваксина;

IV група — 0,5 мл триваксина, а след 30 дни 1 мл триваксина;

V група — контролна.

За имунизация се използват суха вариолна ваксина (серия ДК № 1700 с годност до 30. X. 1963 г.) и триваксина (серия № 11, ДК № 137 с годност до август 1964 г.), произведени в НИЕМ.

Триваксината инжектирахме подкожно на предварително обезкосмена част в областта на скапулата. Вариолната ваксина се приложи също на предварително обезкосмена част в областта на скапулата, като с борера на Пирке правехме скарификация през предварително нанесена капка вариолна ваксина. При комплексното прилагане (втора и трета група) триваксината се правеше на лявата страна, а вариолната на дясната страна в скапуларната област. За определяне на серологичните показатели се вземаше кръв през определени интервали от време и се извършваха: реакцията аглутинация тип Видал, титриране на тетаничния антитоксин на бели мишки, реакция за задържа на хемоаглутинацията (РЗХА) и реакция за свързване на комплемента (РСК). Реакциите се извършваха по общоприетите методики.

Зайците се наблюдаваха ежедневно в течение на 15 дни след всяка инжекция и периодично в течение на една година, като се следеше общото им състояние, температурата и се отчитаха местните изменения.

Резултати и анализ

I-ва група. Температурната реакция започна на втория ден. След едновременно спадане на температурата се отбеляза повишение от четвъртия до десетия ден с максимум на осмия ден. Температурата показва стойности от 39° до $40,2^{\circ}$, средно $39,58^{\circ}$, които съответствуваха на местните изменения на ваксиналната реакция против вариола. На втория ден се появи инфилтративно зачервяване, което продължи от 1 до 4 дни. От третия до петия ден на мястото на ваксинацията се формираха едва забележими с обикновено око папули, които бързо пустулираха и от четвъртия до шестия ден се образуваха крусти. Те отпаднаха между седмия и единадесетия ден. Местните изменения в тази група се появиха по-рано и персистираха по-продължително време в сравнение с втора и трета група. Най-висока температура бе отбелязана в пустулозния стадий. Симптоми на ваксинален енцефалит не бяха наблюдавани.

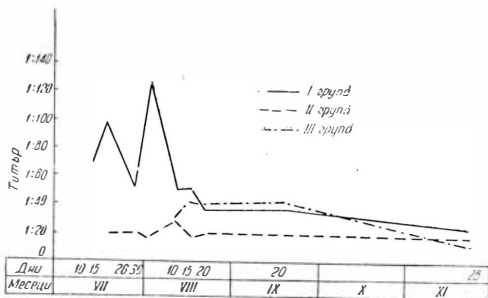
От 8 заека 6 дадоха положителна и 2 отрицателна обща и местна ваксинална реакция против вариола.

РЗХА бе отрицателна при 2-та заека, дали отрицателна обща и местна реакция. При всички останали тя започна да се позитивира от десетия ден със среден титър 1 : 70 (преди ваксинацията той бе 0). Титърът достигна максимума на 30-ия ден — 1 : 125, и постепенно спадна до 1 : 23 в края на петия месец (вж. диаграма I). Титърът у отделните зайци се движеше от 1 : 20 до 1 : 320. Тазн група даде най-висок титър на анти-тялообразуване.

Титърът на комплемента започна да нараства от десетия ден, достигна максимума на 25-ия ден и запази нивото си (вж. диаграма 4).

Втора група. Общата температурна реакция отговаряше на местните изменения. Температурата се движеше от $38,8^{\circ}$ до $40,2^{\circ}$, средно $39,51^{\circ}$. Характерно бе понижаването на температурата до четвъртия ден, след което тя се повиши. Това повишение съвпадна с времето на пустулозния стадий на ваксинацията, който се появи по-късно — на 4 —

5-ия ден. Съответно на това и кръстите се образуваха на 6-ия — 8-ия ден и отпаднаха за 4—5 дни при по-кратко обратно развитие. Триваксината не даде ранни местни изменения, но към 18-ия ден се появиха възелчета на големина от лещено до бобено зърно. Те се резорбираха за 10—15 дни.



Диаграма 1. Динамика на титъра на антихемоаглутинините у зайците от I, II и III група

От 8 заека 5 дадоха положителна и 3 отрицателна обща и местна ваксинална реакция. Температурната реакция след прилагане на втора инжекция триваксина показва по-ниски стойности в сравнение с първата инжекция — от 38° до $39,5^{\circ}$, средно $38,91^{\circ}$.

Не се отбелязаха симптоми за ваксинален енцефалит. Отрицателни бяха и патохистологичните изследвания.

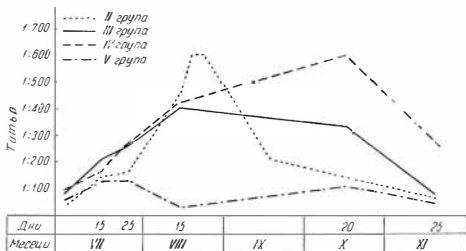
РЗХА бе отрицателна при три от зайците с нормална температура и липса на обща и местна реакция. При всички останали позитивизирането започна по-късно — от 15-ия ден, и то с нисък титър 1 : 20 (преди ваксинацията той бе 0), достигна максимум 1 : 28 на 4-ия ден и постепенно спадна до края на петия месец (вж. диаграма 1). Титърът се движеше от 1 : 10 до 1 : 40.

Титърът на комплемента започна да нараства от 10-ия ден, достигна максимума на 15-ия ден, след което, леко понижен, запази нивото си и след втората инжекция триваксина (вж. диаграма 4).

Титърът на аглутинините при реакция аглутинация тип Видал за група DO започна да нараства от 10-ия ден, достигна максимум към 50-ия ден и до края на петия месец спадна до 1 : 50. Титърът се движеше от 1 : 50 до 1 : 800 при бързо достигане на максимума и сравнително рязко спадане (вж. диаграма 2).

Титърът на аглутинините при реакция аглутинация тип Видал за група ВО започна да нараства по-рано — от 5-ия до 10-ия ден, достигна максимум на 45-ия ден и в края на петия месец спадна до 1 : 125.

При титрирането на тетаничния антитоксин се установи, че в деня на имунизацията серумът на зайците от групата съдържа $< 1,10$ АЕ,



Диаграма 2. Динамика на титъра на О-аглютинините у зайците от II, III, IV и V група

на 15-ия ден титърът достигна до > 1 и < 3 АЕ, на 45-ия ден > 3 АЕ и в края на петия месец $> 1,2$ АЕ и < 1 АЕ. Тази група даде най-добър антитоксичен титър (вж. таблица I).

Трета група. Температурната реакция се движеше от 39 до 39,6°, средно 39,3° и показва по-ниски стойности от първа и втора група. Температурната крива достигна своя максимум на осмия ден. Липсваше зачервяване на мястото на имунизацията, възлите се появиха на 18-ия ден. При прилагането на вариолната ваксина едновременно с втора инжекция триваксина температурата показва също по-ниски стойности в сравнение с втора група и се движеше от 38 до 40°, средно 38,98°. Максимумът на температурната крива съвпадна с появяването на пустулата, която се яви по-късно — на 5 — 6-ия ден, и по-бързо регресира (за 1—2 дни). Крустите се образуваха на 7 — 8-ия ден и отпаднаха за 3 до 7 дни. Установи се, че колкото по-късно се явяват местните изменения при ваксинацията против вариола, толкова по-кратка е тяхната еволюция. Възлите на мястото на имунизацията се появиха на 5 — 9-ия ден.

От 8 заека при противовариолната ваксинация 3 дадоха положителна и 5 — отрицателна обща и местна реакция. Клинично и патохистологично ваксинален енцефалит не се констатира.

РЗХА бе отрицателна при 3 от зайците, дали отрицателна обща и местна ваксинална реакция, а при останалите 2 заека (също с отрица-

Таблица 1

Динамика на титъра на тетаничния антитоксин у зайците от I, II, III, IV и V група

Група зайци	№ на заек	Дати на изследването			
		1. VII	15. VII	15. VIII	27. XI
I	1	< 1/10 АЕ	< 1/10 АЕ	< 1/10 АЕ	< 1/10 АЕ
	7	< 1/10 АЕ	< 1/10 АЕ	< 1/10 АЕ	< 1/10 АЕ
II	11	< 1/10 АЕ	> 1 < 3 АЕ	> 3 АЕ	> 1/2 < 1 АЕ
	12	< 1/10 АЕ	> 1 < 3 АЕ	> 3 АЕ	> 1/2 < 1 АЕ
III	18	< 1/10 АЕ	> 1/2 < 1 АЕ	> 1 < 3 АЕ	< 1/10 АЕ
	20	< 1/10 АЕ	> 1 < 3 АЕ	> 3 АЕ	> 1/2 < 1 АЕ
IV	31	< 1/10 АЕ	> 1/10 < 1/2 АЕ	> 1/10 < 1/2 АЕ	< 1/10 АЕ
	32	< 1/10 АЕ	> 1/10 < 1/2 АЕ	> 1 < 3 АЕ	< 1/10 АЕ
V	38	< 1/10 АЕ	< 1/10 АЕ	< 1/10 АЕ	< 1/10 АЕ

телна ваксинална реакция) РЗХА даде много ниски титри (1 : 10). При зайците, дали положителна ваксинална реакция, позитивизирането започна от 10-ия ден със среден титър 1 : 30, достигна максимума на 15-ия ден — 1 : 42, и спадна до 1 : 10 в края на петия месец (вж. диаграма 1). Титърът се движеше от 1 : 10 до 1 : 20, като само един заек даде висок титър — 1 : 160. Тази група се характеризира с по-голям брой зайци, даващи отрицателна обща и местна ваксинална реакция, и значително по-ниски стойности на антитялообразуване (с изключение на заек № 20, даващ титър 1 : 160).

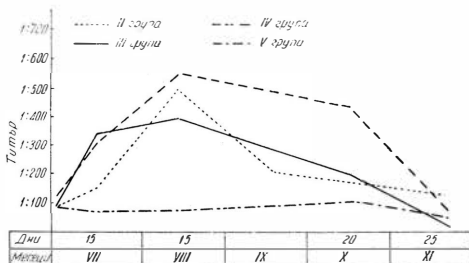
Титърът на комплемента започна да нараства от 5-ия ден, достигна максимума на 15-ия ден, след което запази нивото си и след прилагане на противовариолната ваксина с втора инжекция триваксина (вж. диаграма 4).

Титърът на аглутинините при реакция аглутинация тип Видал за група DO започна да нараства от десетия ден. След втората инжекция титърът продължи да нараства, достигна максимума на 45-ия ден, след което постепенно спадна до четвъртия месец, за да се снижи рязко до края на петия месец до 1 : 50 (вж. диаграма 2).

Титърът на аглутинините при реакция аглутинация тип Видал за група BO започна да нараства от петия ден и достигна максимума на 20-ия ден. След втората инжекция титърът продължи да расте, достигна максимума към 40—50-ия ден и постепенно спадна до 1 : 50 в края на петия месец (вж. диаграма 3).

При титрирането на тетаничния антитоксин върху бели мишки се установи, че в началото на имунизацията серумът на зайците от групата съдържа $< 1/10$ АЕ, на 15-ия ден титърът достигна $> 1/2$ АЕ и < 3 АЕ, на 45-ия ден > 1 АЕ и < 3 АЕ и в края на петия месец $> 1/2$ АЕ и < 1 АЕ (табл. 1).

Четвърта група. Температурната реакция се движеше от $38,8^\circ$ до $39,8^\circ$, средно $39,32^\circ$, които стойности са сравнително ниски.



Диаграма 3. Динамика на титъра на ВО-аглютинините у зайците от II, III, IV и V група

Възлите на мястото на приложение на триваксината се явиха на 18-ия ден. При прилагане на втора инжекция триваксина зайците реагираха с местно дифузно зачервяване през първите 1 до 3 дни, което не даде отражение върху температурната крива. Последната се движеше от 38 до $39,5^\circ$, средно $38,9^\circ$. Тези стойности са почти еднакви с тези след прилагане на втора инжекция триваксина във втора и трета група зайци. Към десетия ден се образуваха възли с големина от лещено до бобено зърно, като един продължаваха да нарастват до 17-ия ден до големина на лешник, а други регресираха без по-нататъшно нарастване. Абсцедиране не бе наблюдавано.

Титърът на комплемента започна да нараства от 10-ия ден, достигна максимума на 15-ия ден, след което се задържа на едно ниво и след втората инжекция триваксина (вж. диаграма 4).

Титърът на аглютинините при реакция аглутинация тип Видал за група DO започна да нараства от 10-ия ден и достигна максимума на 30-ия ден. След втората инжекция титърът продължи да расте до четвъртия месец, след което започна да спада, но в края на петия месец се задържа все още високо — $1 : 250$ (вж. диаграма 2).

Титърът на аглутинините при реакция аглутинация тип Видал за групи ВО започна да нараства до 10-ия ден, достигна максимума за 5 дни след втората инжекция триваксина, т. е. на 35-ия ден, след което постепенно спадна до четвъртия месец, за да се снижи рязко в края на петия месец до 1 : 75. Тази група даде най-високи и най-продължително задържащо се антицялообразуване (вж. диаграма 3).

Динамиката на титъра за групи Н- и ВН-аглютинините при всички реакции за тип Видал почти съвпадна с тия от групите ДО и ВО.

При титриране на тетаничният антитоксин на бели мишки се установи, че в деня на имунизацията серумът на зайците от групата съдържа < 1.10 АЕ, на 15-ия ден > 1.10 АЕ и < 1.2 АЕ, на 45-ия ден > 1 АЕ и < 3 АЕ, а в края на петия месец < 1.10 АЕ. Тези стойности са по-ниски от втора и трета група (вж. таблица 1).

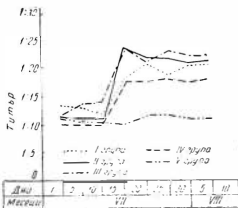
Петта група. Температурата на контролните опитни животни за периода, съответстващ на първа инжекция, бе средно 39,4° и съответно на втора инжекция — 38,95°.

Титърът на комплекта показва минимални стойности без динамика. Титърът на аглутинините при реакция аглутинация тип Видал за групите ДО и ВО се движеше от 1 : 50 до 1 : 150. При титриране на тетаничният антитоксин на бели мишки се установи титър < 1.10 АЕ.

Разглеждайки данните на О-антителата за коремнотифната компонента във втора, трета и четвърта група (вж. диаграма 2), се вижда, че при самостоятелното и при комплексното, но разделно прилагане (с първа и втора инжекция) на вариолна ваксина покачването на титъра след първата инжекция започва почти едновременно, нараства с еднакъв интензитет и едновременно достига своя максимум (на 40—45-ия ден). Разликата в максималните титри не са големи и в трите групи. Това показва, че вариолната ваксина не угнетява образуването на О-аглютинините. Обаче по-нататъшното проследяване титъра на антителата дава по-ранно и по-ускорено снижение на същия при комплексното прилагане.

Получените данни за динамиката на ВО антицялообразуването (вж. диаграма 3) и в трите групи са напълно аналогични с тия от група ДО. Нещо повече — тук се наблюдава едновременност и по отношение началото на снижение титъра на антителата.

В динамиката на титъра на антихемоаглютинините за първа, втора и трета група (вж. диаграма 1) се наблюдават някои особености: интензивно нарастване, високи максимални стойности на титъра при самостоятелното прилагане на вариолната ваксина и нисък интензитет на нарастване със значително по-ниски максимални стойности при комплекс-



Диаграма 4. Динамика на титъра на комплекта у зайците от I, II, III, IV и V група

ното прилагане с първа и втора инжекция триваксина. Антихемообразуването започва по-късно при комплексното прилагане с втора инжекция. По-нататъшното проследяване на титъра на антихемоаглутинините показва, че по-рязко спада, но все пак се задържа в значителни стойности при самостоятелно прилагане, а при комплексно прилагане по-бавно спада, но стойностите му са винаги по-ниски. Приведените данни показват, че има известно затормозване на имуногенезата у зайците по отношение на антихемоаглутинините при комплексното прилагане на вариолната ваксина с триваксина.

При самостоятелното прилагане на вариолната ваксина зайците показва добре изразена обща и местна реакция. При комплексното разделяно прилагане с първа и втора инжекция триваксина местните изменения се появиха по-късно, бяха по-слабо изразени и по-бързо еволюираха.

За изясняване развитието на резистентността у зайците се проведе реваксинация на 12-ия месец от ваксинирането. Всички зайци, отрицателно реагирали при началната ваксинация, дадоха положителна обща и местна ваксинална реакция при реваксинацията, а положително реагиралите при началната ваксинация зайци дадоха отрицателна местна реакция, което свидетелствува, че създаденият противовариолен имунитет и при тия по-ниски стойности на антихемоаглутинините е достатъчен да предотврати повторното ваксиниране на зайците в наблюдавания период.

След имунизацията нарастването на комплемента и в четирите групи (вж. диаграма 4) показва определен паралелизъм помежду си. Поради непроследяване динамиката на нарастването му след 45-ия ден не можем да вземем становище относно паралелизма с титъра на антихемоаглутинините.

Динамиката на антитоксинообразуването показва пълен паралелизъм във втора, трета и четвърта група (вж. таблица 1): започване на 15-ия ден, достигане максимума към 45-ия ден, и то в еднакви титри до 3 АЕ. През следващия период до петия месец се установява спадане на титъра на антитоксините в кръвта до ниво от 1,2 АЕ до 1 АЕ, т. е. значително по-висок от ниво на контролната група. Тези данни показват, че комплексното прилагане на триваксината с вариолната ваксина (с втора и трета инжекция) не тормози антитоксинообразуването. Забелязва се даже известно стимулиране, изразено в по-големия брой на високите титри на антитоксина при това прилагане.

Изводи

1. При едновременното разделяно прилагане на вариолна ваксина с първа или втора инжекция триваксина кривата на титъра на антихемоаглутинините показва, че те се явяват малко по-късно със значително по-ниски максимални стойности, но по-бавно спадат, отколкото при самостоятелното прилагане. Повторната ваксинация (след 12 месеца) даде отрицателна местна реакция.

2. Максималните стойности на титъра на О-аглутинините (за коремно-тифната и паратифната Б компоненти) при комплексното разделяно прилагане на триваксина — преципитат с вариолна ваксина, са приблизително

еднакви с титъра на О-аглутинините на същите компоненти при самостоятелното ѝ прилагане. След достигането на максимума титърът на О-аглутинините при комбинираното прилагане дава по-ускорено снижение.

3. Антитоксинообразуването при комплексното прилагане се оказва напълно еднакво по стойност и динамика с това при самостоятелното прилагане на триваксината.

4. Комплексното прилагане на вариолна ваксина с триваксина (I или II инжекция) предизвиква изработване на антитела против антигените съдържащи се във ваксините. При комплексното прилагане се наблюдава известен антагонизъм между антигените, изразяващ се преди всичко в по-ниския титър на антихемоаглутинините. Обаче отрицателната кожна реакция при реваксинация показва, че и при тия по-ниски титри на антихемоаглутинините е създаден достатъчно напрегнат имунитет против вариола.

5. Получените резултати дават известно основание да се изпита комплексното приложение на вариолната ваксина с триваксина и на хора.

ЛИТЕРАТУРА

1. Басев, В. Н., Н. К. Готев, Цв. Ганчева и др. — *Бюлетин на НИЕМ*, 1962, 5, 49. — 2. Беляков, В. Д., А. А. Ильченко — *ЖМЭИ*, 1963, 3, 118. — 3. Бургасов, П. И., К. Т. Гапчко — *ЖМЭИ*, 1959, 10, 130. — 4. Васильев, В. Н., В. Д. Неустроев, А. И. Полозов и др. — *ЖМЭИ*, 1964, 2, 5. — 5. Ганчева, Цв. — *Бюлетин на НИЕМ*, 1962, 5, 45. — 6. Качмарчик, А. К. — *ЖМЭИ*, 1964, 2, 63, 7. — 7. Шпигунов Ф. А. — *ЖМЭИ*, 1959, 1, 24.

ИЗУЧЕНИЕ КОМПЛЕКСНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ОСПЕННОЙ ВАКЦИНЫ И ТРИВАКЦИНЫ НА КРОЛИКАХ

К. Я. Кузлов, П. Панайотов, Цв. Ганчева, П. Кочошаров, Р. Маринова, Г. Капрелян
Л. Ничева, Л. Шикова, А. Панайотови

РЕЗЮМЕ

Проведено изучение комплексного применения оспенной вакцины и тривакцины на кроликах. В виде показателя степени выработанного иммунитета была использована динамика титра антител, титра комплекса и кожные изменения при вакцинальной реакции.

Было установлено, что при комплексном применении оспенной вакцины с тривакциной (I-ой или II-ой инъекцией) вызывается выработка антител в отношении антигенов, содержащихся в вакцинах: ДО и ВО антителообразование при комплексном применении приблизительно одинаково с таковым при самостоятельном применении вакцин, а антитоксинообразование является вполне одинаковым при обоих способах применения вакцин. Замечается известное подавление образования антигемоагглютининов при комплексном применении. Отрицательная общая и

местная реакция при ревакцинации, однако, показывает, что даже и при этих более низких титрах антигемоагглютининов у кроликов выработан достаточный иммунитет против оспы.

INVESTIGATIONS ON THE COMPLEX APPLICATION OF SMALLPOX VACCINE AND TRIPLE VACCINE IN RABBITS

K. J. Kuzmov, P. Panayotov, Tzv. Gancheva, P. Kokosharov, R. Marinova, G. Koprijeljan, L. Nicheva, L. Shikova and A. Panayotova

SUMMARY

A study is carried out on the complex application of smallpox vaccine and triple vaccine in rabbits. The dynamics of the antibody titer, of the complement and of the skin changes during the vaccine reaction is employed for indicating the degree of immunity produced. It is established that during the combined application of smallpox vaccine and triple vaccine (I or II injection), production of antibodies to the antigens contained in the vaccines is induced: the DO and VO antibody production during complex application is approximately equal to that during single application, whereas the antitoxin production is completely identical with both methods of vaccine administration. A certain degree of inhibition of antihemagglutinin production is observed during complex application. The negative general and local reaction during revaccination demonstrates however, that a sufficient immunity to smallpox in rabbits is produced in the lower titers of antihemagglutinins as well.