

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ СОЮЗА ССР

# ИЗВЕСТИЯ

ИРКУТСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО  
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО  
ПРОТИВОЧУМНОГО ИНСТИТУТА  
СИБИРИ И ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА

*Том XIV*

БИБЛИОТЕКА  
Иркутского Гос. науч. института  
Противочумного института  
СИБИРИ И ДВ

ИРКУТСКОЕ КНИЖНОЕ ИЗДАТЕЛЬСТВО  
1957

616.9  
И. 81

5236

# ИЗВЕСТИЯ

ИРКУТСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО  
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО  
ПРОТИВОЧУМНОГО ИНСТИТУТА  
СИБИРИ И ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА

*Том XIV*

23016  
5236

БИБЛИОТЕКА  
Иркутского Гос. научно-исследов.  
Против. чумно. о Института  
Сибиря и ДВ

ИРКУТСКОЕ КНИЖНОЕ ИЗДАТЕЛЬСТВО  
1957

Редакционная коллегия:

*Алтарева К. Д.* (ответственный редактор), *Жовтый И. Ф.*  
(секретарь), *Клец Э. И.*, *Некипелов Н. В.*, *Тимофеева Л. А.*,  
*Хунданов Л. Е.*

Э. И. Клец, В. П. Хрусцелевский,  
Р. С. Колесник, З. С. Кудинова,  
Н. В. Олькова, Л. А. Смирнова

### О ВОСПРИИМЧИВОСТИ ТАРБАГАНОВ И ДЛИННОХВОСТЫХ СУСЛИКОВ К ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЧУМЕ

Работами ряда исследователей (Чурилина, 1926; Гайский, 1926, 1928, 1944; Макаров, 1949 и другие) было установлено, что при экспериментальном заражении малого суслика, тарбагана и алтайского сурка в состоянии глубокой спячки у этих, обычно легко восприимчивых к чуме животных; наблюдается резкое повышение устойчивости к возбудителю чумы или заметное торможение развития инфекционного процесса. Тинкер и Калабухов (1934) — для малого суслика, а Макаров (1949) — для алтайского сурка показали, что осеннее повышение резистентности организма этих животных наблюдается независимо от того, когда произошло заражение животных — в период бодрствования или в период спячки. Макаров также отмечает, что сурки, зараженные чумой в позднеосенний период, могут не давать генерализованных форм инфекции и выживать даже в том случае, если они после заражения находились длительное время в состоянии бодрствования.

Предварительные опыты, проведенные нами в 1953 г., подтвердили исследования Макарова. Все эти наблюдения свидетельствуют о том, что сезонные изменения резистентности организма к чуме связаны не столько с понижением температуры тела и замедлением процессов обмена веществ в организме спящего животного (как склонны были считать Чурилина, Гайский, Тинкер, Калабухов и другие авторы), сколько с глубокой перестройкой всего физиологического состояния организма грызуна перед залеганием его в спячку. В связи с этим мы полагаем, что проблема чумной энзоотии является проблемой эколого-физиологической и ее успешное разрешение возможно только при изучении носителя, переносчика и возбудителя инфекции в единстве с условиями их существования.

По отношению ряда других инфекций зоонозного характера (туляремия, паратиф В, сибирская язва, крысиный и мышинный тифы, пастереллез и др.) в настоящее время можно считать доказанным, что чувствительность восприимчивых к ним животных обуславливается физиологическим состоянием организма последних (Глухов и Соколова, 1923; Билинг, 1926; Глухов, Романова и Сажина, 1925; Малышева, 1930; Метелкин и Сахаров, 1940; Кучерук и Ду-

наева, 1948; Пегельман, 1950; Кучерук, Рютин и Дунаева, 1951; Пилипенко, 1950 и др.). При ослаблении организма в результате действия ряда факторов (голодание, недостаток влаги, переохлаждение, травмирование и т. п.) чувствительность испытанных авторами животных к перечисленным инфекциям обычно сильно повышается.

Экспериментальных работ по выяснению роли физиологического состояния организма носителя в развитии инфекционного процесса при чуме почти не проводилось. Шунаев (1933) пытался вызвать заражение чумой волка, обычно невосприимчивого к этой инфекции. Он предварительно травмировал желудочно-кишечный тракт волка добавлением к пище битого стекла, а затем скармливал ему павшую от чумы морскую свинку. Вызвать развитие инфекционного процесса у этого животного автору не удалось. Колчина и др.<sup>1</sup> пытались спровоцировать обострение хронической чумы у полуденных песчанок путем их охлаждения, перегрева, удаления селезенки и пр., но также не достигли положительных результатов. Других работ в этом направлении нам не известно.

Изложенное привело нас к убеждению, что постановка экспериментов по выяснению роли физиологического состояния организма носителя в развитии инфекционного процесса при чуме является своевременной и будет способствовать разрешению ряда вопросов эпизоотологии этой инфекции. На первых порах мы поставили своей задачей изучить реакции организма тарбагана и длиннохвостого суслика, в зависимости от упитанности этих животных, на заражение их вирулентным чумным штаммом. Одновременно ставилась цель выяснить поведение чумного микроба и его распределение в организме подопытных животных в зависимости от физиологического состояния последних.

Объектами наших исследований были избраны тарбаганы и длиннохвостые суслики. Первые из них являются одним из основных носителей чумы в Забайкало-Монгольском энзоотическом очаге. Вторые, по данным последних наблюдений, видимо, занимают в Западной Монголии место даурского суслика, относящегося в Забайкалье и Восточной Монголии ко второму основному носителю этой инфекции. Для опытов брались только взрослые (половозрелые) зверьки, добытые вне энзоотической зоны. Тем самым устранялась возможность влияния на ход опытов иммунной прослойки среди этих животных.

Заражение животных производилось типичным штаммом чумного микроба (№ 143), выделенным от даурского суслика, подкожно в правую заднюю ножку. Доза микробов для заражения определялась по стандарту ЦГНКИ. Зараженные животные выдерживались определенные сроки, затем выжившие зверьки хлороформировались. Во всех сериях опытов павшие и убитые хлороформом животные подвергались вскрытию. При этом производились посевы из органов на обычный мясо-пептонный агар и бульон Хоттингера; делались мазки-отпечатки из внутренних органов и лимфатических узлов для их цитологического изучения. Кроме того брались кусочки различных органов (в 12% формалин и спирт) для гистологического исследования. У выделенных от подопытных жи-

<sup>1</sup> Цит. по Туманскому, Соколовой и Федутиной (1951).

вотных культур изучались по обычной методике морфологические, культуральные и биохимические свойства; некоторые культуры испытывались также на вирулентность.

Перед постановкой опыта взятый для заражения животных штамм титровался на морских свинках, минимальная смертельная доза для которых (при подкожном заражении) была определена в 20 микробов. Перед каждым опытом проверялась на морских свинках вирулентность штамма, которая все время оставалась неизменной.

Одновременно было испытано отношение к этому штамму белых мышей и белых крыс, а также была определена восприимчивость к нему тарбаганов и длиннохвостых сусликов (табл. 1).

Таблица 1  
Сравнительная восприимчивость некоторых грызунов к чумному штамму 143

Доза заражения в D <sub>50</sub> для морской свинки	Тарбаганы			Белые мыши			Белые крысы			Длиннохвостые суслики		
	Заражено	Пало	Выжило	Заражено	Пало	Выжило	Заражено	Пало	Выжило	Заражено	Пало	Выжило
1.250.000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3	3	—
250.000	—	—	—	—	—	—	4	4	—	10	8	2
25.000	—	—	—	—	—	—	14	6	8	13	12	1
2.500	—	—	—	—	—	—	14	6	8	15	12	3
500	—	—	—	—	—	—	18	8	10	13	11	2
100	—	—	—	—	—	—	5	1	4	11	11	—
50	2	2	—	15	13	2	10	4	6	25	20	5
25	2	2	—	5	5	—	3	—	3	3	2	1
10	—	—	—	15	12	3	5	2	3	5	4	1
5	2	—	2	10	9	1	—	—	—	—	—	—
2	2	—	2	15	9	6	5	—	5	5	3	2

Титрация штамма на морских свинках

Доза заражения (количество микробов)	Заражено	Пало	Выжило
1000	2	2	—
500	2	2	—
100	4	4	—
50	2	2	—
20	2	2	—
5	2	1	1

В результате было установлено, что чувствительность перечисленных грызунов к чумному штамму 143 различна, а течение инфекционного процесса у каждого из них имеет свои особенности. Тарбаганы оказались в летний период наиболее чувствительными к подкожному заражению чумой. У них, как правило, от всех доз, начиная с 25, смертельных для морской свинки, развивается острый процесс с последующей гибелью животных в течение 5—8 суток. У длиннохвостых сусликов и белых крыс, при заражении их даже массивными дозами (от 500 до 250 000 смертельных доз для морской свинки), значительно чаще, чем у белых мышей и, тем более, тарбаганов, встречаются отдельные особи высокоустойчивые к чумному микробу. У них имеет место доброкачественное течение инфекционного процесса, нередко заканчивающееся выздоровлением подопытного животного. Белые мыши и суслики оказались более восприимчивыми к возбудителю чумы, чем белые крысы.

Установив восприимчивость тарбаганов и сусликов к чумному штамму 143, мы перешли к постановке экспериментов по выяснению значения упитанности животных в развитии у них инфекционного процесса.

Опыт первый был поставлен с целью определения различий в характере развития у ослабленных и «нормальных» длиннохвостых сусликов инфекционного процесса при заражении их чумой в летний период. Для этого взрослые, только что добытые зверьки разбивались на две группы. Одна группа (33 зверька), ослабленные, содержались в течение двух недель на половинной норме обычного суточного рациона. За это время зверьки теряли до 13—16 процентов своего первоначального веса. Другая группа (24 зверька), «нормальные», содержались в это время на усиленном питании. При этом вес зверьков или оставался без изменений, или несколько прибывал. Затем обе группы одновременно были заражены подкожно 50 смертельными для морской свинки дозами чумного микроба. Через различные сроки после заражения (3 и 6 часов, 1, 3, 5, 7 и 10 суток) животные убивались хлороформом по два на срок и немедленно вскрывались. Все убитые и павшие зверьки исследовались по принятой нами методике. Результаты опыта представлены в табл. 2.

В группе ослабленных основная масса сусликов (не считая убитых по срокам) погибла на 4—6-е сутки. К исходу 6-х суток были живы только три зверька. Из них один погиб на 7-е сутки, а два были в этот же день захлороформированы. В группе «нормальных» (которая была меньше по числу зверьков), при том же числе убитых, гибель животных была несколько растянута по срокам. К исходу 6-х суток были живы 7 зверьков. Один из них дожил до 10-х суток и был забит.

При патоморфологическом исследовании убитых на разных сроках после заражения сусликов установлено следующее.

В месте введения культуры развивается острый воспалительный очаг с наличием здесь многочисленных чумных микробов, причем в то время как у «нормальных» животных он представляется в виде более или менее ограниченного гнойника, у ослабленных этот очаг имеет крупные размеры и характеризуется значительно выраженными экссудативно-некробиотическими явлениями (гиперемия, кровоизлияния, разлитая лейкоцитарная ин-





фильтрация, некроз в центре). В регионарных лимфатических узлах, в той или иной степени увеличенных и уплотненных, на разрезе отмечается гиперемия, которая у «нормальных» сусликов иногда сочетается с незначительно выраженным гнойным расплавлением ткани, а у ослабленных — с полутворожистым распадом ее. Гистологически здесь вначале (1 сутки) имеет место гиперемия и преимущественно лимфоидная гиперплазия (с явлениями миелоидной метаплазии), затем к этому присоединяется гнойная инфильтрация (корковый слой, капсула и окружающая клетчатка), обычно с диффузным или очаговым некрозом элементов инфильтрации и обилием чумных микробов, что у ослабленных животных наблюдается чаще и выражено отчетливее, чем у «нормальных». В отдаленных лимфатических узлах изменения ограничиваются гиперемией и лимфоидной гиперплазией; последняя у «нормальных» животных как будто несколько более отчетлива и сочетается с явлениями гиперплазии ретикулярной ткани. В селезенке, которая на вид представляется гиперемизированной и припухшей с увеличенными в объеме фолликулами, под микроскопом отмечается гиперплазия фолликулов и пульпы, полнокровие и заполнение полиморфноядерными лейкоцитами синусов, инфильтрация ткани миелоидными элементами; у ослабленных сусликов, кроме того, иногда в пульпе встречаются очаги некроза с наличием здесь чумных микробов, тогда как у «нормальных» это не наблюдается. В легких обращает на себя внимание гиперемия и неравномерная инфильтрация межальвеолярных перегородок гистиоцитами, лимфоцитами и эпителиоидными клетками; кроме того, у тех и других животных, но значительно чаще у ослабленных, обнаруживаются пневмонические очаги с заполнением альвеол и просвета бронхов серозно-геморрагическим или гнойным экссудатом. Печень несколько дряблая, а на разрезе имеет слегка тусклый вид и желтоватый цвет. Гистологически здесь отмечается умеренная зернистая и жировая дистрофия паренхимных элементов и гиперплазия звездчатых клеток с очаговой пролиферацией последних; у тех и других животных на 3—5-й день после заражения приблизительно с одинаковой частотой обнаруживаются воспалительные узелки, построенные из звездчатых элементов, гистиоцитов и эпителиоидных клеток с примесью полиморфноядерных лейкоцитов и некрозом в центре (кариорексис); на этих же сроках попадают некробиотические очажки с явлениями кардио- и плазмолитической печеночных клеток и пролиферацией звездчатых элементов по периферии; отчетливой разницы в изменениях между той и другой группой отметить не удастся. В почках, миокарде и надпочечниках изменения имеют характер зернистой дистрофии паренхимных элементов, в общем одинаково выраженной в той и другой группе животных. В головном мозгу отмечается зернисто-вакуолярная дистрофия и тигролиз протоплазмы ганглиозных клеток с некоторым увеличением в количестве их сателлитов. В костном мозгу независимо от группы животных имеет место гиперемия, гиперплазия с увеличением количества мегакариоцитов и фагоцитоз последними полиморфноядерных лейкоцитов.

В мазках-отпечатках из места введения культуры у обеих групп животных отмечается инфильтрация нейтрофилами, с более или менее значительным распадом последних, причем у ослабленных сусликов указанная ин-

филътрация выражена отчетливее, чем у «нормальных». Кроме того, у этих животных иногда обнаруживаются многочисленные чумные микробы. В регионарных лимфатических узлах, кроме общих для обеих групп изменений (инфильтрация нейтрофилами, юными формами и гистиоцитами), у ослабленных зверьков наблюдается фагоцитоз микробов гистиоцитами с распадом последних на глыбки. В селезенке отмечается вначале небольшая, а затем значительная инфильтрация ткани нейтрофилами, более резко выраженная у ослабленных сусликов, у которых, кроме того, иногда наблюдается миелоидная метаплазия; на поздних сроках у тех и других животных имеет место дистрофия лимфоидных элементов органа, сопровождающаяся у ослабленных зверьков распадом нейтрофилов с инфильтрацией ткани чумными микробами. В печени также отмечается инфильтрация нейтрофилами, которая у ослабленных зверьков наступает на более ранних сроках, чем у «нормальных». В легких развивается незначительная инфильтрация нейтрофилами, лимфоцитами и гистиоцитами; у животных ослабленных здесь, кроме того, иногда обнаруживаются многочисленные чумные микробы. В костном мозгу на фоне гиперплазии ткани у ослабленных животных иногда наблюдается дистрофия клеточных элементов.

У животных, павших после заражения от самой болезни, в месте введения культуры очаг поражения имеет крупную величину и характер острого воспаления с гиперемией, отеком, кровоизлияниями, лейкоцитарной инфильтрацией и обилием чумных микробов, располагающихся свободно и в просвете лимфатических путей; у ослабленных животных в области указанного очага отмечается более или менее глубокий некроз в центре, что выражено относительно слабо у «нормальных» зверьков, у которых к тому же воспалительный очаг представляется более четко ограниченным расположенными по периферии гистиоцитами, эпителиоидными клетками и фибробластами; наоборот, у ослабленных животных воспалительный очаг нередко вообще лишен подобного краевого ограничения и представляется в форме обширной флегмоны. В регионарных и отдаленных лимфатических узлах, а также в селезенке, печени, легких и других органах установлены типичные для чумной септицемии поражения, причем определенной разницы в зависимости от группы животных при этом отметить не удается.

В мазках-отпечатках из места введения культуры и регионарных лимфатических узлов у ослабленных сусликов на вторые, у «нормальных» — на пятые сутки после заражения отмечается незначительная или обильная инфильтрация нейтрофилами с примесью небольшого числа лимфоцитов и, реже, гистиоцитов. Вне клеток или в протоплазме гистиоцитов постоянно встречаются чумные микробы. В отдаленных лимфатических узлах лишь у ослабленных сусликов иногда отмечается либо дистрофия клеточных элементов, либо разрастание протоплазмы некоторых лимфоцитов. В печени, селезенке, легких и других органах изменения клеточных элементов почти не различаются между собой в той или другой группе животных.

Приведенное описание патоморфологической и цитологической картины чумы у «нормальных» и ослабленных сусликов показывает, что у голодающих сусликов в сравнении с «нормальными» инфекционный процесс с патоморфологической и цитологической стороны в своем течении является более злокачественным. Это выражается в большей частоте поражений, превышении их по размерам и глубине над поражениями у «нормальных» животных и в относительном преобладании свойственных им экссудативно-альтеративных явлений над пролиферативными.

Высеваемость микроба из органов ослабленных и "нормальных" длиннохвостых сусликов, зараженных чумой в летний сезон (вскрывалось по 2 суслика на срок)

Высеваемость по срокам	"Нормальные"						Ослабленные						
	через 3 часа	через 6 часов	через 1 сутки	через 3 суток	через 5 суток	через 7 суток	через 10 суток	через 3 часа	через 6 часов	через 1 сутки	через 3 суток	через 5 суток	через 7 суток
Из каких органов	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+
Место введения культуры	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+
Регионарные лимфатические узлы	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+
Другие лимфатические узлы	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Селезенка	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Печень	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Легкие	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Кровь	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Условные обозначения:

- + культура выделена;  
 - культура не выделена.

О различии в развитии инфекционного процесса у ослабленных и «нормальных» зверьков, убитых на разных сроках после заражения, свидетельствует и характер распределения возбудителя чумы в организме подопытных животных (табл. 3).

У зверьков обеих групп во все прослеженные сроки микробы чумы регулярно высеваются из места введения культуры и регионарного лимфатического узла. В печени и селезенке у ослабленных сусликов микробов удается обнаружить в более ранние сроки и в большем числе случаев, чем у «нормальных». В крови у «нормальных» животных микробы не встречаются; у ослабленных — иногда высеваются.

Все вышеизложенное свидетельствует о том, что ослабление организма длиннохвостых сусликов недостаточным питанием в летний период вызывает у этих животных более быстрое развитие инфекционного процесса, с септицемическим течением последнего и с более глубокими патоморфологическими изменениями органов, а также, по-видимому, с более часто развивающейся бактериемией. У «нормальных» сусликов развитие инфекции идет более медленно и менее остро, чем у ослабленных.

Опыт второй был поставлен с целью выяснить чувствительность длиннохвостых сусликов к чуме в зависимости от их упитанности в осенний период. Для этой цели предварительно ослабленные (тем же способом, что и в предыдущем опыте) до потери 19—39 процентов своего первоначального веса и «нормальные» суслики (значительно более упитанные, нежели они были в момент их добычи), по 9 особей в каждой группе, были одновременно заражены в конце октября 50 смертельными для морской свинки дозами чумного штамма 143. По мере гибели зверьки вскрывались и подвергались патологоанатомическому, бактериологическому и цитологическому исследованиям.

Таблица 4

Сроки гибели зараженных чумой „нормальных“ и предварительно ослабленных сусликов осенью 1954 г.

(Доза заражения 50 D<sub>50</sub> для морской свинки)

Группа	Всего заражено	П а л о п о с р о к а м										Всего пало	Из них пало от чумы	Выжило	
		4-е сут-ки	5-е сут-ки	6-е сут-ки	7-е сут-ки	8-е сут-ки	9-е сут-ки	10-е сут-ки	11-е сут-ки	13-е сут-ки	30-е сут-ки				
Ослабленные	9	1	4	—	1	1	—	—	—	—	—	1	8	8	1*
„Нормальные“	9	1	—	2	2	1**	—	—	—	1**	—	7	7	2***	

Примечания \* У выжившего выделена (на 21-е сутки) культура чумного микроба.

\*\* Чума не подтверждена.

\*\*\* У одного выжившего выделена (на 21-е сутки) культура чумного микроба.

Гибель животных по группам происходила неравномерно (табл. 4). Из ослабленных выжил только один суслик; 7 зверьков пало на 4—8-е сутки после заражения и один на 30-е сутки. В группе «нормальных» пало от чумы на 4—7-е сутки после введения культуры только 5 зверьков.

У всех павших на 4—8-й день после заражения животных в месте введения культуры, как правило, обнаруживается крупный воспалительный очаг с отеком, гиперемией и кровоизлияниями в мягких тканях; в глубине такого очага часто имеет место некротический распад, а иногда нагноение тканей. Регионарные лимфатические узлы умеренно либо более или менее значительно увеличены в объеме, что у животных ослабленных выражено отчетливее, чем у «нормальных», уплотнены, гиперемированы и иногда, у животных ослабленных, они в состоянии творожистого распада. Отдаленные лимфатические узлы также гиперемированы, а у ослабленных сусликов они нередко умеренно увеличены в объеме. Селезенка у тех и других зверьков более или менее увеличена, утолщена, дрябла и полнокровна; у животных «нормальных» иногда в этом органе обнаруживаются, кроме того, мелкие некротические очажки. Легкие обычно гиперемированы, отечны, содержат под плеврой мелкие кровоизлияния и иногда диффузно уплотнены. Печень у животных обеих групп немного увеличена в объеме, дрябла, желтовато-серого или глинистого вида, иногда пронизана единичными мелкими беловатыми очажками. Прочие органы существенных изменений не имеют.

В мазках-отпечатках из места введения культуры у сусликов, павших на 4—5-е сутки после заражения, обнаруживаются в незначительном количестве лимфоциты и нейтрофилы, а также единичные гистиоциты с микробами в протоплазме. У ослабленных животных микробы встречаются и в протоплазме нейтрофилов. У зверьков, павших в более поздние сроки (на 6—8-е сутки), отмечается обильная клеточная инфильтрация с распадом клеточных элементов и наличие значительного количества чумных микробов, располагающихся свободно в промежутках между клетками. В регионарных лимфатических узлах у «нормальных» сусликов, павших в первые дни после заражения, заметных изменений не обнаружено; у ослабленных здесь наблюдается умеренная инфильтрация нейтрофилами; у тех и других животных, павших на более поздних сроках (6—8-е сутки), отмечается лейкоцитарная инфильтрация и увеличение объема лимфоцитов.

В отдаленных лимфатических узлах у тех и других животных, павших на отдаленных сроках (5—6-е сутки), наблюдается распад лимфоидных элементов; у ослабленных сусликов здесь, кроме того, обнаруживаются миеоциты. В селезенке у большинства ослабленных сусликов имеет место распад лимфоцитов, инфильтрация юными и зрелыми полиморфноядерными лейкоцитами и дистрофически измененными гистиоцитами, а также чумными микробами, располагающимися свободно и в протоплазме гистиоцитов и нейтрофилов. У «нормальных» животных в этом органе наблюдается лишь миеоидная метаплазия. В печени, легких и других органах изменения клеточных элементов не имеют различий в зависимости от группы животных.

От всех павших ослабленных и от пяти «нормальных» сусликов, павших на 4—7-е сутки, были выделены через посев из органов на среды типичные культуры чумного микроба. При этом как у ослабленных, так и у «нормальных» зверьков чумные микробы высевались из регионарных лимфатических узлов, печени и селезенки; из места введения культуры и из крови высеять микроба не удалось.

У двух «нормальных» сусликов, павших на 8—13-е сутки после заражения, при вскрытии обнаружены воспалительные очаги в

месте введения культуры (в одном случае с некрозом в центре), отмечается некоторое увеличение регионарных и отдаленных лимфатических узлов, печени и селезенки; у одного из них в печени встречаются единичные мелкие некротические узелки. Зверьки хорошо упитаны. Посевы из органов на среды оказались стерильными. Биопроба на белых мышках дала отрицательный результат.<sup>1</sup>

Заслуживает особого внимания один ослабленный суслик, павший на 30-е сутки после заражения. При его исследовании обнаружено резкое истощение (полное отсутствие подкожного и внутреннего жира). Регионарные и отдаленные лимфатические узлы несколько увеличены и гиперемированы. Печень содержит мелкие беловатые очажки. Легкие отечны и полнокровны. Остальные органы не изменены.

В мазках-отпечатках из места введения культуры и легких отмечается обильная инфильтрация лимфоцитами и свободно располагающимися микробами. В лимфатических узлах и в селезенке изменений не обнаружено.

Через посев на обычные питательные среды от этого зверька из печени выделена типичная культура возбудителя чумы. Белые мыши, зараженные подкожно эмульсией органов этого зверька, пали в обычные сроки с характерной для чумы патологоанатомической картиной при высеваемости культуры из всех органов.

Все это дает основание полагать, что у рассматриваемого суслика имела место затянувшаяся генерализованная форма чумы.

Выжившие суслики были забиты в следующие сроки: по одному от каждой группы на 22-е сутки и один «нормальный» — на 30-е сутки. При исследовании последнего характерных для чумы патологоанатомических изменений органов обнаружено не было.

В мазках-отпечатках из места введения культуры и регионарного лимфатического узла у этого суслика отмечается значительная инфильтрация макрофагами с сильно вакуолизированной протоплазмой, иногда содержащей мелкие базофильные зерна. Кроме того, имеет место незначительная инфильтрация гистиоцитами и нейтрофилами в легких.

Посевы из органов зверька остались стерильными; белые мыши, зараженные эмульсией органов, выжили.

У «нормального» суслика, забитого на 22-е сутки, патологоанатомические изменения органов выражены слабо. Регионарный лимфатический узел слегка увеличен и уплотнен. Печень желтоватого цвета. Селезенка небольшой величины и обычного для нее вида, но содержит под капсулой один мелкий беловатый узелок. Прочие органы не изменены.

В мазках-отпечатках из места введения культуры и регионарного лимфатического узла — выраженная макрофагальная реакция.

Посевом выделена типичная культура возбудителя чумы из места введения.

Отсутствие характерных для чумы патологоанатомических изменений органов у первого из этих двух сусликов, наличие весьма

<sup>1</sup> По-видимому, гибель этих двух сусликов не была связана с развитием чумной инфекции.

незначительных изменений органов у второго, а также отчетливая фагоцитарная реакция в месте введения культуры и в регионарных лимфатических узлах у последнего свидетельствуют о доброкачественном характере инфекционного процесса у этих животных. У первого из них наступило полное выздоровление. На пути к выздоровлению, по-видимому, находился и второй суслик.

У ослабленного суслика, забитого на 22-е сутки, отмечается сильное общее истощение. Регионарный лимфатический узел увеличен до размеров боба, спаян с окружающей клетчаткой, в состоянии гнойного расплавления. Отдаленные лимфатические узлы также заметно увеличены, уплотнены и гиперемированы. Печень дряблая, желтоватого цвета с единичными крупными некротическими очажками. Селезенка содержится под капсулой единичные некротические очажки. Легкие равномерно полнокровны.

В мазках-отпечатках имеет место отчетливая макрофагальная реакция в месте введения культуры, регионарных и отдаленных лимфатических узлах и в печени. Кроме того, в лимфатических узлах, печени и легких наблюдается распад нейтрофилов.

Посев из органов на питательные среды дал типичный рост чумного микроба из печени.

Несколько более глубокие патологические изменения органов, а также высеваемость микроба чумы из печени дают нам основание предполагать, что у этого суслика инфекционный процесс развивался более остро, чем у двух предыдущих животных. В то же время хорошо выраженная макрофагальная реакция в месте введения культуры, лимфатических узлах и печени, обеспечивающая фагоцитоз возбудителя чумы, по-видимому, свидетельствует о том, что организм этого зверька успешно справлялся с заболеванием.

Сравнивая результаты первого и второго опытов, мы считаем уместным отметить, что в осеннее время организм сусликов менее чувствителен к возбудителю чумной инфекции, чем летом. В результате заражения «нормальных» сусликов в летний и осенний период одной и той же дозой одинаково вирулентного штамма в первом случае заболели чумой все 24 суслика. При этом инфекционный процесс у них носил злокачественный характер. В осенний же период из 9 зараженных чумой «нормальных» сусликов погибли от самой болезни только 5; у остальных заболевание имело доброкачественный характер, а в одном случае закончилось полным выздоровлением.

Различие в характере течения инфекционного процесса в осенний период у «нормальных» и ослабленных сусликов (превышение патологических изменений органов у последних, а также большая их гибель в ранние сроки с положительными посевами возбудителя инфекции) позволяет предполагать, что более высокая упитанность зверьков в этот период является одной из причин осеннего понижения их чувствительности к чумному микробу.

Опыт третий. Тарбаганы, ослабленные до потери 14—32 процентов своего первоначального веса и «нормальные» (прибавившиеся за время содержания их в вольере перед опытом на 12—35%), по 5 в каждой группе были одновременно заражены поздней осенью штаммом 143 (доза 25 D<sub>1m</sub> для морской свинки). По мере

гибели зверьки исследовались по той же методике, что и в предыдущих опытах. Как свидетельствуют материалы опыта (табл. 5),

Таблица 5

Сроки гибели зараженных чумой „нормальных“ и предварительно ослабленных тарбаганов осенью 1954 г.

(Доза заражения 25 D<sub>1m</sub> для морской свинки)

Группа	Всего заражено	Пало по срокам в (сутках)							Всего	Из них чума подтверждена бактериологически	Выжило
		8-е	9-е	10-е	10-е	11-е	12-е	13-е			
Ослабленные	5	—	1	—	—	—	1*	1	3	2	2
„Нормальные“	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5

\* В мазках много биполяров, патолого-анатомические изменения, характерные для острой формы чумы; культура не выделена.

гибели «нормальных» тарбаганов не наблюдалось; из ослабленных зверьков пали три. У двух из них, павших на 8 и 13-е сутки в месте введения культуры изменения либо отсутствуют, либо здесь имеется воспалительный очаг с отеком, гиперемией и некрозом тканей; регионарные лимфатические узлы заметно увеличены в объеме, гиперемированы, а иногда рыхлы и имеют желтоватый цвет; отдаленные лимфатические узлы также умеренно увеличены в объеме и гиперемированы; селезенка увеличена немного, но дрябла, с большим соскобом на разрезе; печень слегка увеличена в объеме, дрябла, желтовата, иногда содержит под капсулой единичные некротические очажки; легкие гиперемированы, иногда вздуты, содержат небольшие кровоизлияния.

В мазках-отпечатках из органов отмечается следующее: в месте введения культуры — обильная инфильтрация распадающимися лимфоцитами и нейтрофилами; фагоцитоз микробов гистиоцитами; в лимфатических узлах — незначительная инфильтрация нейтрофилами и дистрофически измененными гистиоцитами, а также фагоцитоз микробов последними; в селезенке — дистрофия лимфоидных элементов и обилие свободно лежащих микробов; в легких — незначительная инфильтрация гистиоцитами, лимфоцитами и нейтрофилами, иногда с наличием в протоплазме последних чумных микробов.

Через посев на питательные среды от этих тарбаганов выделена культура чумы из места введения, селезенки, печени, легких, крови и из отдаленного лимфатического узла (в одном случае).

У ослабленного тарбагана, павшего на 12-е сутки, имеет место сильное общее истощение. В месте введения культуры



изменения отсутствуют. Регионарный и отдаленные лимфатические узлы умеренно увеличены и гиперемированы. Печень слегка увеличена в объеме и дрябла. Селезенка также несколько увеличена, дрябла, с единичными очажками некроза. Легкие содержат под плеврой кровоизлияния.

В мазках-отпечатках из органов этого тарбагана установлено следующее: в месте введения культуры — очагово расположенные скопления чумных микробов; в регионарном лимфатическом узле — инфильтрация лимфоцитами и немногочисленными распадающимися нейтрофилами; в селезенке — дистрофия лимфоидных элементов и обилие свободных и фагоцитированных микробов; в печени — обилие чумных микробов, фагоцитоз последних звездчатыми клетками и инфильтрация претерпевающими распад нейтрофилами; в легких — немногочисленные чумные биполяры.

Несмотря на то, что возбудитель чумы от этого тарбагана выделен не был, патологические изменения органов и присутствие в них значительного количества чумных биполяров свидетельствуют о развитии чумной септицемии. В этом случае, видимо, имело место явление, неоднократно отмечавшееся ранее Гайским (1926, 1926а, 1928, 1944), Констансовым (1932) и другими исследователями, когда при типичном чумном заболевании у исследуемых животных в осенний период не удается выделить возбудителя чумы.

Гибели «нормальных» тарбаганов не наблюдалось. Все они, а также два выживших ослабленных зверька были убиты хлороформом на 21-е сутки. При вскрытии этих животных обнаружено следующее: регионарные лимфатические узлы слегка увеличены в объеме; печень на вид не изменена, но иногда у «нормальных» животных в ней встречаются мелкие беловатые очажки; легкие у ослабленных зверьков изменений не имеют, у «нормальных» они часто гиперемированы и иногда содержат под плеврой единичные некротические очажки; другие органы не изменены.

В мазках-отпечатках из органов выживших тарбаганов только в регионарных лимфатических узлах, печени и селезенке отмечается иногда незначительная инфильтрация нейтрофилами да в легких у «нормальных» зверьков изредка наблюдается увеличение количества гистиоцитов, нередко содержащих неопределенного характера фагоцитированный материал.

У всех выживших тарбаганов бактериологически чума подтверждена не была. Биопробные животные остались живыми.

Приведенные данные позволяют полагать, что недостаточная упитанность тарбаганов в осенний период, видимо, не только вызывает повышение чувствительности к чумному микробу этих сравнительно мало восприимчивых в это время зверьков, но и обуславливает у них острое септицемическое течение болезни.

Изучение культуральных, морфологических и биологических свойств штаммов, выделенных от подопытных животных во всех сериях опытов, показало, что большинство из них не отличается по своим основным свойствам от исходной культуры.

Обобщая результаты наших исследований, мы считаем возможным предполагать, что степень упитанности зверьков имеет наравне с другими, еще нам неизвестными факторами определенное значение в развитии инфекционного процесса. Вполне вероятно, что, будучи связанной с несколько разным характером обмена веществ в тот или иной сезон года, степень упитанности тарбаганов и сусли-

ков, отловленных вне энзоотической зоны, является одной из возможных причин сезонных различий восприимчивости этих грызунов к чумной инфекции.

Тарасов (1953) на основе сравнительных экологических наблюдений утверждает, что эпизоотии в Хангае наблюдаются чаще и носят более интенсивный характер в засушливые годы. Автор объясняет отмеченный факт усилением контакта между основными носителями инфекции в эти годы в связи с недостатком пищи. Основываясь на материалах наших исследований, мы полагаем, что наряду с контактом грызунов в развитии эпизоотии имеет значение и степень их упитанности.

### ВЫВОДЫ

1. Степень восприимчивости к одному и тому же островирулентному штамму возбудителя чумы и характер инфекционного процесса у тарбагана и длиннохвостого суслика имеют свои особенности. Первые значительно чувствительнее к чуме и приближаются по своей восприимчивости к этой инфекции и ее течению к морским свинкам. Вторые менее чувствительны к заражению; у них чаще имеет место доброкачественное течение инфекционного процесса.

2. У тарбаганов и длиннохвостых сусликов, так же как у малых сусликов и других видов сурков, наблюдаются сезонные изменения восприимчивости к возбудителю чумы. Осенью перед залеганием в спячку длиннохвостые суслики и, особенно, тарбаганы становятся более устойчивыми к заражению чумой.

3. Предварительное ослабление длиннохвостых сусликов недостаточным питанием в летний период вызывает более быстрое развитие инфекционного процесса при экспериментальной чуме. При этом у ослабленных сусликов в сравнении с «нормальными» септицемия развивается на более ранних сроках. Недостаточная упитанность сусликов и особенно тарбаганов в осенний период повышает их чувствительность к чумному микробу.

4. Одной из возможных причин сезонных различий в восприимчивости к чумной инфекции длиннохвостых сусликов и тарбаганов, отловленных вне энзоотической зоны, по-видимому, может являться степень их упитанности, связанная с несколько разным характером обмена веществ в тот или иной период.

5. Наряду с другими факторами степень упитанности грызунов, по-видимому, может оказывать влияние на интенсивность и продолжительность течения эпизоотий.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Гайский Н. А. Чума у сусликов по временам года. Труды 5-го противочумного краевого совещания при гос. краевом ин-те микробиологии и эпидемиологии Ю.-В. СССР в г. Саратове. Саратов, 1926.

2. Гайский Н. А. Чума у сусликов *Spermophilus tugozaricus* зараженных в состоянии глубокой спячки. Сб. «Чума на Ю.-В. СССР и причины ее эндемичности». Под редакцией Заболотного и Омелянского. Ленинград, 1926.

3. Гайский Н. А. К вопросу о спонтанной чуме у спящих сусликов. Труды Первого Всесоюзного противочумного совещания в Саратове. Саратов. 1928.

4. Гайский Н. А. Инфекция и иммунитет у животных, залегающих в зимнюю спячку. Изв. Иркутского гос. противочумного института, т. V, 1944.

5. Глухов В. Т. и Соловьева Ю. В. О влиянии голодания у людей и животных в связи с прививками в Петрограде в 1921 г. Архив биол. наук, т. XXVI, вып. 1—3, М.—Л., 1926.

6. Констансов С. В. Латентная и хроническая формы чумы сусликов в связи с эпидемиологическим значением чумных сусликовых эпизоотий. Журнал эпидемиол. и микробиол., 1932, № 11—12.

7. Кучерук В. В. и Дунаева Г. Н. Материалы по динамике численности полевки Брандта. Сб. «Материалы по грызунам». Вып. 3. М., 1948.

8. Кучерук В. В., Рютин В. Л. и Дунаева Г. Н. Опыт изучения пастереллезной эпизоотии тарбаганов в Восточной Монголии. Сб. «Материалы по грызунам». Вып. 4. М., 1951.

9. Малышева Л. А. К вопросу о влиянии голодания на состояние иммунитета. Журнал эксперимент. биологии и медицины, т. XIV, сер. Б, 1930, № 40.

10. Метелкин А. И. и Сахаров П. Н. Инфекционные и инвазионные болезни кроликов. Сельхозгиз, 1940.

11. Пегельман С. Г. Экспериментальное изучение восприимчивости общественной и обыкновенной полевок к бактериям Данича и бактериям Мережковского. Вторая экологическая конференция по проблеме: «Массовые размножения животных и их прогнозы». Тезисы докладов. Ч. II. Киев, 1950.

12. Пилипенко В. Г. О скрытом бациллоносительстве у водяных крыс при туляремии и значении этого фактора в сохранении туляремийной инфекции в межэпизоотические периоды. Сб. научных работ Приволжской противэпидемической станции, вып. I, Астрахань, 1953.

13. Тарасов П. П. Позвоночные Южного Хангая и некоторые черты их экологии. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Рукопись. Иркутск, 1953.

14. Туманский В. М., Соколова Н. М. и Федуткина Н. Х. К вопросу о генерализации затянувшейся чумной инфекции в организме грызунов. Труды ин-та «Микроб», Саратов, 1951.

15. Чурилина А. Л. Эпидемиологическое обследование по чуме. Сб. «Чума на Ю.-В. СССР и причины ее эндемичности». Под редакцией Заболотного и Омелянского. Ленинград, 1926.

16. Bieling Die Bildung antiinfektiöser Immunkörper bei hungernde Kaninchen. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. Berlin, 1926, Seite 188—190.

А. К. Балабкин и А. Д. Солодка

### ВОСПРИИМЧИВОСТЬ К ЧУМЕ КОГТИСТЫХ ПЕСЧАНОК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ЗАРАЖЕНИИ

Когтистые или монгольские песчанки (*Meriones unguiculatus* M. Edw.) распространены на территории Монголо-Забайкальского эндемического очага чумы. Их поселения отмечаются от Синьцзяна (Хами) на восток до Внутренней Монголии и на юг до Алашаня, а в Забайкалье — на территориях, расположенных в юго-западной части его (Кяхтинский и Джидинский районы) [1]. Как показали наблюдения последних лет [2], данный вид может иметь распространение также на территории Юго-Восточного Забайкалья, в местах разлитых эпизоотий в прошлом, давая здесь, подобно некоторым другим видам мышевидных грызунов, массовые поселения. Так, в 1951—1953 гг. имело место массовое появление когтистых песчанок в районе Торейских озер на территориях, прилегающих к селам Соловьевск, Кулусутай и местечку Гулженга.

Стации когтистых песчанок совпадают со станциями полевков Брандта, с которыми они находятся в тесной биоценотической связи (Кучерук, Дунаева), а также даурских сусликов (Леонтьев, Хамаганов).

Предпочитая рыхлые песчаные почвы, они охотно поселяются на обработанных человеком землях вблизи жилища человека. По данным паразитолога Тимофеевой [3] энтомофауна когтистых песчанок исчисляется из 15 видов блох, которые в основном совпадают с видами, обычными для полевков Брандта. Превалирующими видами являются *Neopsylla pleskei*, *Frontopsylla luculenta*, а также эндемичная форма — блоха сусликов *Ceratophyllus tesquorum* при наличии сусликов в ареале песчанки.

Значение когтистых песчанок в эпизоотологии и эпидемиологии чумы детально не изучено. Литературные данные о наблюдениях за восприимчивостью их к чумной инфекции в природе отсутствуют. Экспериментальные данные показывают высокую степень чувствительности их к данной инфекции. В 1946 г. Н. А. Орлова [4] провела заражение 4 экземпляров когтистых песчанок подкожно различными дозами *V. pestis* и 4 австрийским методом, для чего была использована селезенка морской свинки, павшей от чумной септицемии. Животные погибли при явлениях первичной септицемии (без

бубонов) через 2—4 дня. Автор отмечает высокую восприимчивость когтистых песчанок к чуме и рекомендует использовать их как лабораторных животных.

Исходя из приведенных выше кратких сведений о биоэкологических особенностях когтистых песчанок и экспериментальных данных, мы считаем, что восприимчивость к чуме когтистых песчанок нуждается в изучении для выяснения вопроса о их эпизоотологической роли. Выяснение данного вопроса, в частности, необходимо для эпидемиологической оценки факта массового появления их на территориях Юго-Восточного Забайкалья, бывших ранее свободными от массовых поселений этого вида грызунов. В этом направлении нами и было начато исследование. Ниже мы представляем результаты опытов, имевших целью выяснение степени восприимчивости когтистых песчанок к возбудителю и чувствительности к чумной инфекции при различных дозах и методах заражения.

Методика и условия наших опытов были следующими.

Когтистые песчанки отлавливались на территориях, прилегающих к с. Соловьевск, Ононского района, Читинской области; перед опытом выдерживались в карантине в течение 15 дней и в опыт подбирались примерно одного веса. Для контроля использовались белые мыши и морские свинки. Заражение производилось 2-суточной агаровой культурой *V. pestis* 143, типичной по своим морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам и обладающей  $D_{1m}$  для белых мышей в 100 микробных тел. Павшие в ходе опыта животные исследовались путем просмотра патологоанатомической картины, посева из органов, тканей и крови на агар и бульон Хоттингера и микроскопией мазков-отпечатков. Опыты были проведены в апреле, в конце июня и ноябре. Время проведения опытов соответствует периодам наибольшей активности когтистых песчанок в природе в связи с размножением и недостатком кормов (апрель) и в связи с размножением и заготовкой кормов на зиму (ноябрь) [5]. Конец июня и июль являются периодом пониженной активности этих зверьков.

Приведем результаты первого опыта.

При заражении в данном опыте были применены дозы штамма *V. pestis* № 143 в 250, 100, 50, 25 и 10 микробных тел. Для этого использовано 40 когтистых песчанок, по 8 особей на каждую дозу. Контролем служило заражение такого же количества морских свинок и белых мышей. Гибель всех зверьков вследствие чумной септицемии наблюдалась от доз в 250 и 100 микробных тел, гибель части зверьков — от доз в 50, 25, а также 10 микробных тел.

Средние сроки гибели когтистых песчанок равнялись 4—6 суткам. Отмечена некоторая зависимость срока гибели песчанок от применяемой дозы при заражении. Так, песчанки, зараженные 250 микробными телами, пали все от чумы в течение 5 дней, сроки же гибели шести песчанок, зараженных дозой в 10 микробных тел, растянуты до 8 суток. Контрольные белые мыши все пали от 250 микробных тел в сроки от 4 до 7 суток. Результаты данного опыта представляем в табл. 1.

Таблица 1

Чувствительность когтистых песчанок к возбудителю чумы при подкожном заражении различными дозами *B. pestis*

Количество зверьков	Доза микробных тел	Сроки гибели							Всего пало от чумы	Всего осталось живыми или пало от посторонней причины
		2-е сутки	3-е сутки	4-е сутки	5-е сутки	6-е сутки	7-е сутки	8-е сутки		
8	10	1—		2+		2+	1+	1+	6	2
8	25		1+	2+	2+	1+, 1—			6	2
8	50	1—		5+	1+				6	2
8	100			3+	4+			1+	8	
8	250		2+	5+	1+				8	

Примечание. Знак + означает гибель от чумы;

„ — „ „ „ от посторонней причины.

При патологоанатомическом исследовании у всех когтистых песчанок, павших от чумы, наблюдались явления острого септического процесса с более или менее выраженными геморрагиями. Для примера приведем следующий протокол:

Когтистая песчанка (№ 768), самец, вес 70 граммов, упитач, заражен 24 апреля, пал 28.

Сосуды подкожной жировой клетчатки инъецированы, в месте прививки в подкожной жировой клетчатке студенистый отек, регионарные лимфатические узлы слегка увеличены. Печень и селезенка кровенаполнены, увеличены, легкие кровенаполнены из всех органов на агаре Хоттингера и в бульоне получен рост *B. pestis*. В мазках-отпечатках из органов обнаружены в большом количестве биполярные палочки.

В данном опыте мы нашли, что полной смертельной дозой *B. pestis* 143 для когтистых песчанок является 100 микробных тел. Указанную дозу мы и применили при заражении животных в последующих опытах, проведенных нами в различные периоды наших наблюдений. При этом мы полагали, что применение одинаковых доз создает, наряду с другими моментами, общность условий опытов, необходимую для наблюдения сравнительной чувствительности к *B. pestis*.

#### Внутрибрюшинный, подкожный, австрийский и оральный методы заражения

Заражение внутрибрюшинно и подкожно проведено дозой в 100 микробных тел *B. pestis* 143. Для австрийского метода использовалась селезенка когтистой песчанки, павшей от чумной септицемии, а для орального заражения брались органы чумных песчанок и морских свинок. Заражено 40 когтистых песчанок, по 10 особей на каждый метод. Гибель животных наблюдалась в следующие

сроки. При внутрибрюшинном заражении 2 особи пали на 3-и сутки, 5 — на 4-е сутки и 3 — на 5-е сутки. При подкожном методе пало 7 особей на 4-е сутки и 3 на 5-е. При заражении австрийским методом 1 песчанка пала на 2-е сутки и 9 — на 3-и сутки. Из органов каждой павшей песчанки получены культуры *V. pestis* на агаре и в бульоне; в мазках-отпечатках из органов, как правило, наблюдалась масса биполярных палочек. Заражение когтистых песчанок оральным методом было проведено путем скармливания им органов инфицированных животных, при этом из 10 когтистых песчанок, взятых в данный опыт, 5 песчанок кормились органами песчанок и 5 — органами морских свинок, только что павших от чумной септицемии. Всего пало в этом опыте 7 песчанок в течение 2—6 суток. 3 когтистые песчанки из числа тех, для кормления которых в садки были положены инфицированные органы павшей песчанки, остались живыми. Они были забиты на 15-е сутки и в результате исследования видимых патологоанатомических изменений отмечено не было, культура не выделена, в мазках-отпечатках из органов микрофлоры не обнаружено.

### Патологоанатомическая картина

У всех когтистых песчанок отмечены, как и в вышеописанном опыте, явления острого септического процесса. Инъекция сосудов подкожной жировой клетчатки, кровенаполнение селезенки, печени, легких, при этом у части песчанок отмечались мелкие, точечные, экстравазаты на плевре легких и капсуле печени. При подкожном и австрийском методах заражения в местах введения культуры наблюдались плотные инфильтраты иногда с геморрагическим пропитыванием, увеличение подкожных лимфатических желез, ближайших к месту прививки. Прочие подкожные лимфатические железы оставались без заметных изменений.

У песчанок, павших при оральном способе заражения, отмечена гиперемия и увеличение подчелюстных и шейных лимфатических узлов (2 особи), а также гиперемия кишечника (3 особи).

Гиперемия кишечника отмечалась у части песчанок и при других способах заражения. Изменения органов при всех способах заражения были вполне аналогичны, кроме обычно отмечаемого подкожного инфильтрата в месте введения при подкожном и накожном способах заражений, а также вышеуказанных 2 случаев увеличения подчелюстных и шейных желез при оральном способе заражения.

Приведем протоколы вскрытия когтистых песчанок, зараженных внутрибрюшинным и австрийским методами.

Когтистая песчанка № 1031, самец, вес 60 граммов, упитан, заражен внутрибрюшинно 19, пал 23 ноября. При вскрытии отмечена инъекция и небольшой отек подкожной жировой клетчатки. Подкожные лимфатические узлы без заметного увеличения, селезенка и печень увеличены, кровенаполнены, легкие кровенаполнены.

Когтистая песчанка № 1054 самка, вес 46 граммов, средней упитанности. Заражена австрийским методом 23, пала 26 ноября. В месте прививки незначительный плотный инфильтрат. Инъекция сосудов подкожной жировой клетчатки. Печень, селезенка, легкие кровенаполнены.

Результаты описанных опытов сведены в табл. 2.

Таблица 2

Чувствительность когтистых песчанок к чуме при различных методах заражения

Способы заражения	Доза микробных тел	Количество животных	Результаты заражения
Внутрибрюшинно	100	10	$\frac{2+}{3}$ ; $\frac{5+}{4}$ ; $\frac{3+}{5}$
Подкожно	100	10	$\frac{7+}{4}$ ; $\frac{3+}{5}$
Австрийский метод	100	10	$\frac{1+}{2}$ ; $\frac{9+}{3}$
Орально	органы морских свинок	5	$\frac{2+}{2}$ ; $\frac{2+}{3}$ ; $\frac{1+}{6}$
— „ —	органы песчанок	5	$\frac{1+}{4}$ ; $\frac{1+}{5}$ ; $\frac{3-}{-}$
<u>Контроль—</u> <u>белые мыши</u>			
Внутрибрюшинно	100	10	$\frac{3+}{3}$ ; $\frac{2+}{4}$ ; $\frac{2+}{5}$ ; $\frac{1+}{8}$ ; $\frac{1+}{10}$ ; $\frac{1-}{-}$
Подкожно	100	10	$\frac{3+}{3}$ ; $\frac{4+}{4}$ ; $\frac{3+}{5}$
Австрийский метод	100	10	$\frac{1+}{1}$ ; $\frac{2+}{2}$ ; $\frac{6+}{3}$ ; $\frac{1+}{4}$

Примечание. Цифры в числителе означают количество павших зверьков, в знаменателе — сроки гибели в сутках.

Знак + означает гибель зверьков от чумы, знак — означает, что зверек остался живым.

Анализ данных, представленных в табл. 2, приводит к заключению, что когтистые песчанки восприимчивы к возбудителю чумы при внутрибрюшинном, подкожном, накожном, а также при оральном методах заражения. Практически чувствительность когтистых песчанок к чумному микробу соответствует таковой белых мышей.

Сроки гибели тех и других одинаковы — они равнялись при внутрибрюшинном и подкожном заражении 4—5 суткам и при австрийском способе в среднем 3 суткам.

В мазках-отпечатках из крови и органов когтистых песчанок, особенно из печени и селезенки, при микроскопии наблюдалась масса чумных палочек. Организм песчанок представлялся, буквально, нафаршированным чумными микробами.

Для выявления возрастной чувствительности когтистых песчанок к возбудителю чумы во второй половине июня был поставлен



небольшой опыт, при котором заражались десять молодых двухмесячных песчанок в 28 граммов среднего веса, выведенных в питомнике, с параллельным заражением такого же количества взрослых песчанок среднего веса в 50 граммов. Заражение проводилось дозой в 100 микробных тел.

Результаты сведены в табл. 3.

Таблица 3

**Чувствительность когтистых песчанок к чуме в зависимости от возраста**

Возраст	Количество животных взятых в опыт	Средний вес в граммах	Доза микробных тел	Метод	Результат заражения
Молодые (2 месяца)	10	28	100	Подкожно	$\frac{4+}{3}$ ; $\frac{3+}{4}$ ; $\frac{2+}{5}$ ; $\frac{1+}{6}$
Взрослые	10	50	100	—	$\frac{2+}{3}$ ; $\frac{6+}{5}$ ; $\frac{1+}{6}$ ; 1—

Примечание. Обозначения те же, что и в таблице 2.

Из таблицы видно, что молодые особи пали от чумы в следующие сроки: 4 на 3-и сутки, 3 на 4-е сутки, 2 на 5-е и 1 на 6-е сутки; взрослые: 2 на 3-и сутки, 6 на 5-е сутки, 1 на 6-е сутки. Одна взрослая песчанка осталась, видимо, здоровой и была захлороформирована на 15-е сутки. Исследование ее не обнаружило каких-либо патологических изменений. Культуры *B. pestis* из органов ее не получено, в мазках-отпечатках органов микрофлоры не отмечено. Как видно из опыта, в первые 3—4 дня молодых особей погибло большее количество (7 штук), взрослых — меньшее (3 штуки), что говорит о несколько большей чувствительности молодых особей. Результаты исследования павших в этом опыте песчанок идентичны вышеописанным. Патологоанатомическая картина представляла явления острой генерализованной чумы.

Все приведенные выше материалы позволяют сделать несколько замечаний по вопросу о возможном эпизоотологическом значении когтистых песчанок. Положительные результаты, полученные при экспериментальном заражении различными методами, показывают возможность заражения когтистых песчанок в природе при контакте с больными грызунами или с трупами павших от чумы грызунов. Значение паразитарного фактора в переносе возбудителя, вероятно, велико, так как чумной процесс в организме песчанок сопровождается бактериемией. При отмеченном выше тесном контакте когтистых песчанок с некоторыми другими видами грызунов, а также с основными хранителями чумной инфекции (суслики) представляется возможным вовлечение когтистых песчанок в чумные эпизоотии.

Результаты наших опытов показывают неизменно высокую чувствительность когтистых песчанок к чуме на протяжении всего теплого периода года: весны, лета, осени. В условиях Монголо-Забайкальского эндемического очага чумы периоды массового размно-

жения когтистых песчанок весной и осенью соответствуют периодам обострения чумных эпизоотий в природе. Следовательно, вовлечение в эпизоотии этого высокочувствительного вида может иметь значение в развитии широких и острых эпизоотий из локальных очагов чумы в природе.

### ВЫВОДЫ

1. Когтистые или монгольские песчанки восприимчивы к возбудителю чумы при внутрибрюшинном, подкожном, накожном (австрийском), а также оральном способах заражения.
2. Степень чувствительности когтистых песчанок к чуме практически соответствует чувствительности лабораторных животных — белых мышей.
3. Когтистые песчанки могут вовлекаться в чумные эпизоотии в природе, обостряя их течение.
4. Эпизоотологическая роль когтистых песчанок при чуме нуждается в дальнейшем изучении в целях выяснения деталей течения эпизоотии в популяциях этого вида.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Виноградов Б. С. и Громов И. М. Грызуны фауны СССР. Изд. АН СССР, 1952.
2. Хамаганов С. А. К биологии когтистой песчанки в районе Торейских озер. Известия Иркутского гос. противочумного института, т. XII, 1954.
3. Тимофеева А. А. Сезонное изменение численности блох когтистой песчанки Ю.-В. Забайкалья. Рукопись. 1952.
4. Орлова Н. А. Когтистые песчанки как лабораторные животные. Известия Иркутского гос. противочумного института, т. VI, 1946.
5. Леонтьев А. Н., Хамаганов С. А. Разработка методов борьбы с монгольской песчанкой (*Meriones ungunculatus* M. Edw.) в Ю.-В. Забайкалье. Рукопись.
6. Тихомирова М. М. Песчанка полуденная, носительница чумного вируса в песчаных районах южноволжских—уральских степей. Вестник микробиологии, эпидемиологии и паразитологии, т. IX, вып. 2, 1934, стр. 89.
7. Фетисов А. С., Московский А. А. Когтистая песчанка в Забайкалье. Труды Иркутского гос. университета, серия биологическая, 1948.
8. Гладков Ф. С. О чумной бактериемии у полуденных песчанок (*Pallasiomys meridianus* Pall) при экспериментальном заражении. Труды Средне-Азиатского научно-исследовательского противочумного института, выпуск 1951 г., стр. 161.
9. Беседина К. П. О судьбе блох большой песчанки после истребления грызунов приманочным методом. Там же, стр. 137.
10. Петрунина О. М. Течение чумы у больших песчанок (*Rhombomys opimus* Lichf) при экспериментальном заражении. Там же, стр. 17.
11. Лобанов В. Н., Федоров В. Н. К вопросу о патогенезе экспериментальной чумы у полуденной песчанки (*Pallasiomys meridianus* Pall). Вестник микробиологии, эпидемиологии и паразитологии, вып. 1—2, 1938, стр. 57.

Л. А. Тимофеева и Р. Р. Живоляпина

### СЛУЧАЙ ВЫДЕЛЕНИЯ *V. PARATYPHI* В ОТ ТАРБАГАНА

Согласно взглядам Кильской школы единственным источником заражения и носителем инфекции паратифа В является человек. Дальнейшими исследованиями доказано выделение *V. paratyphi* В у животных. По данным Штандфуса, Зеликмана и Клаубера [6], носителем паратифа В может быть крупный рогатый скот. Иера [6] выделил возбудителя паратифа В у собаки. В настоящее время рядом исследователей (Носов, Береснев и Розова [3], Савинцева, Егорова и Кристиничева [4], Клюева [1], Нефедьева [2]) установлены случаи выделения «человеческих» штаммов микробов паратифозной группы (*V. paratyphi* А, В, С) у животных.

По последним данным, освещенным в монографии Шура [5], возбудитель паратифа В чаще всего встречается у человека, реже — у крупного рогатого скота, свиней, овец и совсем редко — у лошадей.

В доступной нам литературе мы не нашли указаний на выделение паратифа В от грызунов, поэтому считаем необходимым сделать краткое сообщение о случае выделения *V. paratyphi* В из органов отловленного тарбагана.

В 1951 г. в микробиологический отдел института из Мацеевского эпид. отряда Борзинского отделения поступила для идентификации культура № 285. При изучении ее культурно-биохимических свойств было установлено следующее: посев на пластинчатый агар давал рост крупных полупрозрачных, выпуклых, влажных колоний с легким металлическим блеском.

При микроскопировании колонии желтого цвета, с ровными краями, выпуклые, гладкие. На четвертые сутки после выдерживания посевов в условиях комнатной температуры отмечается феномен валообразования. На скошенном агаре культуры дают пышный рост, в бульоне вызывают общее помутнение среды.

В мазках с твердой и жидкой питательной среды — грам-отрицательные полиморфные палочки с закругленными концами. В ви-сячей капле палочки хорошо подвижны. Выделенная культура биохимически активна: глюкозу, мальтозу, маннит, ксилозу, левулезу, дульцит, сорбит, арабинозу, рамнозу разлагает с образованием кислоты и газа. Глицерин разлагает с образованием кислоты без газа; не разлагает лактозу и сахарозу. Образует сероводород. Молоко не свертывает, молоко с лакмусом не изменяет, индол не образует.

При проверке серологических свойств культура дает реакцию агглютинации со строго специфическими монорецепторными «О» сыворотками IV, V и «Н» сыворотками «В» 1, 2.

На основании культурально-биохимических и серологических свойств мы считаем возможным отнести данную культуру к *V. paratyphi B*.

Выделение культуры паратифа В у отловленного тарбагана указывает на то, что тарбаганы, так же как и человек, могут быть носителями паратифозной инфекции.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ключева Н. Г. О классификации паратифозных бактерий. ЖМЭИ, 1932, № 5.
2. Нефедьева Н. Б. Эпизоотия среди белых мышей, вызванная *almopella paratyph C* «Гигиена и санитария», 1950, № 3.
3. Носов С. Д., Береснев А. П. и Розова Е. Н. К эпидемиологии паратифа В. ЖМЭИ, т. XIV, в. 3, 1935.
4. Савинцева В. Н., Егорова И. А. и Кристиничева. Пищевая вспышка паратифа В. «Гигиена и санитария», 1946, № 10.
5. Шур И. В. Пищевые токсикоинфекции паратифозного характера. Сельхозгиз. Москва, 1953, стр. 105.
6. Дробинский И. Р. Бациллоносительство и борьба с ним. Медгиз. 1953, стр. 147—149.

Е. Н. Хвещенко, Н. В. Синцова, З. Ф. Падалко

### СЛУЧАЙ ВЫДЕЛЕНИЯ ЛИСТЕРЕЛЛ В г. ВОРОШИЛОВЕ

Большое количество работ советских авторов (Сахаров и Гудкова, Свинцов, Слабоспицкий, Повецкая-Усачева, Олсуфьев и Емельянова и др.) говорят о наличии возбудителя листереллеза среди различных групп домашних и диких животных, и птиц, которые могут служить источником заболевания людей листереллезной этиологии.

В 1954 году в связи с изучением патогенной микрофлоры, встречающейся у грызунов, нами было уделено внимание и листереллезу.

Грызуны отлавливались в г. Ворошилове, окрестностях города и Молотовском районе Приморского края. Всего нами исследовано 1482 грызуна, из них 379 серых крыс, 781 домовая мышь и 322 грызуна, отловленных в природных станциях.

В октябре 1954 г. было выделено две культуры листерелл от серых крыс посевами из органов на простом агаре  $pH=7,2$ . Крысы были отловлены в жилых домах г. Ворошилова. Из этих мест в течение последних 2 лет также производился отлов и бактериологическое исследование грызунов, но патогенной микрофлоры от них не выделялось.

Свойства выделенных штаммов оказались следующими: на простом агаре они растут в виде мелких прозрачных росовидных колоний, в проходящем свете голубоватых. На бульоне дают нежное равномерное помутнение, в старых культурах на дне образуется вязкий осадок, при встряхивании поднимающийся косичкой. На скошенном агаре через сутки умеренный рост.

В мазках с агара и бульона грам-положительные палочки с закругленными концами, более толстые, чем возбудитель рожистой инфекции. Расположены римской цифрой V, одиночками, парами. В висячей капле мало подвижны. При посеве уколом в столбиках желатины растут медленно, желатину не разжижают. На кровяном агаре дают ясную зону гемолиза. Индола и сероводорода не образуют. На лакмусовом молоке через сутки роста наблюдается неполное обесцвечивание — на 1 см от дна пробирки с последующим посинением. На средах Гисса ведут себя неодинаково. Так, штамм 3657 образует кислоту через 24—48 часов на глюкозе, мальтозе, на 4-е сутки на лактозе и на 14-е сутки на сахарозе, а штамм 3658 через 24—48 часов — кислоту на глюкозе, мальтозе, на 9-е сутки на лактозе и на 12-е сутки на сахарозе. Отмечается способность штамма 3658, кроме вышеуказанных сахаров, непостоянно сбрасывать маннит.

По данным же Свинцова (ВИЭВ), при исследовании им 23 штаммов, выделенных от свиней, листереллы совершенно не разлагали маннит. Об этом же говорят исследования Олсуфьева и Емельяновой, которые изучали листерии, выделенные от диких грызунов. По данным Сахарова и Гудковой, некоторые штаммы непостоянно сбраживают маннит.

Выделенные нами культуры листерелл патогенны для белых мышей при подкожном и внутрибрюшинном заражении.

При подкожном заражении суточной бульонной культурой в дозе 0,1 мл гибель мышей наступила на 2—7-е сутки.

Патологоанатомические изменения у павших биопробных мышей были характерными для листереллезной инфекции. Печень и селезенка увеличены, пронизаны желтовато-белыми некротическими очажками, паховые железы увеличены, инъекция подкожных сосудов.

При внутрибрюшинном заражении той же дозой гибель белых мышей наступала на 2—5-е сутки. Патологоанатомические изменения следующие: брюшина воспалена, печень анемична, уплотнена, селезенка увеличена и пронизана множественными желтовато-серыми некротическими узелками, инъекция подкожных сосудов, паховые железы увеличены.

В мазках-отпечатках из органов биопробных животных грамположительные палочки с закругленными концами. При посеве из органов выделены листереллы, которые по своим свойствам несколько отличаются от исходных культур листерелл, которыми были заражены белые мыши. Так, исходные штаммы листерелл обесцвечивали лакмусовое молоко неполностью, после же проведения их через организм биопробного животного, культуры приобрели способность обесцвечивать молоко полностью.

Исходный штамм 3658 разлагал маннит через сутки, после проведения его через организм биопробного животного разложения маннита не наблюдалось. На морских свинках ставилась конъюнктивальная проба: в глаза закапывалась односуточная бульонная культура штаммов 3657 и 3658 с последующим легким массажем глаза; в обоих случаях через 3 суток наблюдался гнойный конъюнктивит.

На основании приведенных данных можно предположить, что листереллезная инфекция среди грызунов имеет место в гор. Всрошилове.

В Приморском крае вопросом изучения листереллезной инфекции не занимаются и заболевания людей не диагностируются и не зарегистрированы. По данным же краевой научно-исследовательской ветеринарно-опытной станции в 1950—1953 годах в Гродековском районе, колхозе имени Сталина (пос. Гродеково) и колхозе «Заря коммунизма» (пос. Барановка), имела место распространенная листереллезная эпизоотия среди мелкого рогатого скота.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Олсуфьев Н. Г. и Емельянова О. С. Обнаружение листереллезной инфекции у диких грызунов, насекомоядных и иксодовых клещей. ЖМЭИ, 1951, № 6.
2. Розанов Н. И. Листереллез, микробиологическая диагностика заболеваний сельскохозяйственных животных. Москва, 1952.
3. Сахаров П. П., Гудкова Е. И. Листереллезная инфекция. Москва, 1950.

В. Я. Головачева и Л. А. Тимофеева

### ВЫДЕЛЕНИЕ КУЛЬТУР *Listerella monocytogenes* ОТ МОРСКИХ СВИНОК В ПИТОМНИКЕ

В естественных условиях листереллез широко распространен среди домашних и диких животных, в том числе и грызунов. Впервые у морских свинок листереллы были выделены и описаны Мюррей и Артен (Murray, Arton) в Англии в 1924 г. (Цитировано по Сахарову и Гудковой [1]). У нас в Советском Союзе данные культуры были выделены от морских свинок Гудковой в 1941 г. [2].

В доступной литературе мы не нашли больше описаний выделения листереллезных культур от морских свинок в питомниках и поэтому считаем небезынтересным сделать сообщение о листереллезной инфекции, обнаруженной в нашем питомнике среди морских свинок, тем более что листереллез представляет собой тяжелое заболевание, которому подвержены не только домашние и дикие животные, но и человек.

В нашем питомнике среди морских свинок, доставленных из питомника г. Сумы, наблюдалось своеобразное заболевание, характеризующееся параличами задних конечностей и судорогами. Заболевали в основном самки или беременные, или после родов. У самок часто наступали аборт, некоторые самки погибали вскоре после родов. Заболевание протекало довольно быстро, в течение 1—3 суток. Животные отказывались от пищи, становились вялыми, малоподвижными или лежали на одном боку, шерсть взъерошивалась.

Патологоанатомическая картина при вскрытии павших морских свинок была следующая: наблюдались гиперемия сосудов подложной клетчатки, увеличение печени с множеством мелких некротических узелков, увеличение селезенки, но без узелков. В остальных органах видимых изменений не наблюдалось.

#### Характеристика выделенных культур

При бактериологическом исследовании павших морских свинок, в период от 10/III по 14/IV, мы выделили непосредственно на питательных средах 8 культур, которые на основании приведенных ниже данных мы отнесли к *Listerella monocytogenes*.

В мазках с агара возбудитель имеет вид коротких палочек с закругленными концами, иногда коккобацилл. Располагаются они поодиночке, парно, иногда кучками. В бульоне растут в виде прямых, коротких палочек или коккобацилл, располагаются одиночно,



парно, кучками и редко короткими цепочками. По Граму не обесцвечиваются. Обладают подвижностью, более выраженной у молодых культур (8—12 часов), начиная с 3—4-х суток подвижность ослабевает. Культуры хорошо растут на простом свежеприготовленном агаре. На первые сутки роста колонии мелкие, прозрачные, круглые, с ровным краем, гладкой, слегка выпуклой поверхностью. На 3—4-е сутки и далее колонии становятся более крупными, плоскими, под микроскопом слегка желтовато-беловатого цвета, с гладкой поверхностью, край у некоторых колоний становится неровным.

Рост *Listeria monocytogenes* на мясо-пептонном бульоне вызывает небольшое помутнение среды, при встряхивании которой образуются «муаровые волны». При старении бульона на дне пробирки образуется слизистый осадок, поднимающийся при встряхивании в виде косички. На желатине при посеве уколом рост медленный, через несколько суток—в виде мелких гранул, позднее (к 20—22-му дню) — тонкими, в небольшом количестве, пушистыми отростками. Разжижение желатины не наступает.

На полужидком 0,3% агаре наблюдается рост культуры в верхней трети пробирки, с образованием беловатого цвета дисков. На кровяном агаре вокруг колоний небольшая зона гемолиза.

Все штаммы через одни сутки выращивания при температуре 37° разложили до кислоты глюкозу, левулезу, декстрин; несколько позднее, на 5—10-е сутки, все штаммы разложили мальтозу, глицерин. На 5-е сутки 6 штаммов разложили лактозу, через 12 суток один штамм — галактозу. Все штаммы не разлагали маннит, сахарозу, арабинозу, дульцит.

Выделенные культуры не образуют индола. Сероводород два штамма выделяют на первые сутки, один на вторые сутки и остальные 5 штаммов на пятые сутки. Молоко не свертывают. В лакмусовом молоке три штамма образуют кислоту, остальные не образуют.

Для изучения серологических свойств выделенных культур мы провели реакцию агглютинации с сыворотками, полученными девятикратной иммунизацией кроликов двумя выделенными штаммами и одним эталонным *Listerella monocytogenes* 139, убитым прогреванием.

Результаты перекрестной агглютинации представлены в табл. 1. Из таблицы видно, что сыворотки кроликов, иммунизированных штаммами, выделенными от морских свинок, и эталонным, давали реакцию агглютинации почти в одинаковых титрах, т. е. оказались идентичными между собой. Выделенные культуры дали также положительную реакцию агглютинации в разведении 1:800 с листереллезной сывороткой, полученной из лаборатории профессора Олсуфьева.

Реакция агглютинации была четкой, но отличалась некоторыми особенностями, а именно: наблюдалось полное просветление жидкости и выпадение на дно пробирки агглютината в виде зонтика. При встряхивании агглютината он поднимался со дна пробирки в виде нитей, которые при длительном встряхивании разбивались в гомогенную муть. Такой же характер агглютинации листерелл описывает и Олсуфьев [3]. Листереллезные сыворотки, полученные нами при иммунизации кроликов выделенными культурами и эталонным

## Реакция агглютинации выделенных культур с листереллезными сыворотками

Наименование культуры и №	Титр сыворотки			
	полученной при иммунизации культурой <i>ListereIIa monocytogenes</i> 139	полученной при иммунизации культурой № 160	полученной при иммунизации культурой № 161	листереллезной, полученной от Олсуфьева
<i>ListereIIa monocytogenes</i> 139	1280	640	640	800
Выделенная от морской свинки 160	1280	640	320	800
„ „ 161	640	1280	640	800
„ „ 162	1280	320	320	400
„ „ 179	640	640	640	Реакция не проводилась
„ „ 212	640	1280	1280	
„ „ 213	640	640	640	
„ „ 263	640	640	640	
„ „ 277	320	640	640	

штаммом 139, дали отрицательную реакцию с культурами *Erysipelothrix rhusiopathia*.

Патогенность выделенных культур проверялась на белых мышах. 4 штамма были проверены на морских свинках (табл. 2). Из таблицы видно, что при подкожном заражении белых мышей и морских свинок суточной бульонной культурой выделенных штаммов в дозе 0,5 мл взятые в опыт белые мыши погибли в сроки от 4 до 11 суток, морские свинки — от 4 до 6 суток.

Патологоанатомическая картина следующая. У белых мышей печень, селезенка увеличены и покрыты множественными некротическими узелками; легкие гиперемированы; остальные органы без видимых изменений. У морских свинок паховые железы увеличены; сосуды подкожной клетчатки гиперемированы; печень увеличена, у некоторых свинок пронизана некротическими узелками, у других без узелков; селезенка увеличена, полнокровная; легкие гиперемированы.

В мазках-отпечатках грамположительные палочки. Из органов погибших животных выделены культуры, идентичные исходным.

При введении суточной бульонной культуры выделенных штаммов конъюнктивально морским свинкам у последних развивался гнойный конъюнктивит на 3—5-е сутки.

Из литературных данных видно, что листереллез распространяется главным образом через пищевые продукты или через укус и укол животных и что грызуны, в данном случае морские свинки, могут служить источником заболевания людей. На основании этих данных профилактика в нашем питомнике была направлена на строгую изоляцию подозрительных животных от здоровых. Клетки,

## Патогенность выделенных культур

Наименование и № культур	Вид животного	Количество животных	Доза заражения	Метод заражения	Дни гибели	Вид животного	Количество животных	Доза заражения	Метод заражения	Дни гибели
Выделенная от морской свинки	Белые мыши	2	0,5 мл.	подкожно	5; 10	Морские свинки	2	0,5 мл.	подкожно	4; 5
"	"	2	"	"	8; 9	"	2	"	"	4; 5
"	"	2	"	"	5; 11	"	2	"	"	5; 6
"	"	2	"	"	5; 9	"	2	"	"	4; 5
"	"	2	"	"	5; 6	"				
"	"	2	"	"	5; 6	"				
"	"	2	"	"	5; 6	"				
"	"	2	"	"	4; 5	"				
"	"	2	"	"	5	"				
Listerella monocytogenes	"	2	"	"	"	"				

в которых обнаруживался падеж животных, подвергались дезинфекции, а контактировавшие животные изолировались. Так как резистентность организма по отношению к листереллезу играет важную роль, было усилено питание животных с обеспечением витаминами.

Было обращено внимание на личную профилактику обслуживающего персонала. При выявлении листереллеза у морских свинок у обслуживающего персонала была взята кровь для постановки реакции агглютинации с культурой *Listerella monocytogenes*. Реакция агглютинации сывороток последних с эталонным штаммом *Listerella monocytogenes* 139 и культурой 162, выделенной от морских свинок, была отрицательной.

Работники питомника проводили работу по уходу за подопытными животными в спецодежде, состоящей из комбинезона, специальной обуви, халата и резиновых перчаток, периодически мыли руки с мылом, предварительно обрабатывая их в дезинфицирующем растворе. В конце рабочего дня одежда подвергалась дезинфекции замачиванием в дезинфицирующих растворах. При дальнейшем наблюдении за лабораторными животными питомника и бактериологических исследованиях листереллезной инфекции обнаружено не было.

#### ВЫВОДЫ

1. При исследовании павших морских свинок, доставленных из питомника, нами было выделено 8 культур *Listerella monocytogenes*.

2. Выделенные культуры по культурно-биохимическим и серологическим свойствам однотипны между собой и соответствуют эталонному штамму *Listerella monocytogenes*.

3. Листереллезом в основном болеют морские свинки беременные и после родов.

4. Для предупреждения распространения листереллеза среди подопытных животных необходима строгая изоляция подозрительных животных и контактировавших с павшими животными, а также правильный уход и питание с полным обеспечением витаминного корма.

5. При обнаружении листереллеза в питомнике необходимо строгое соблюдение личной профилактики обслуживающего лабораторных животных персонала.

---

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Сахаров П. П. и Гудкова Е. И. Листереллезная инфекция. Москва, 1950, стр. 24.
  2. Гудкова Е. И. и Сахаров П. П. Изучение листереллеза в СССР. ЖМЭИ, 1947, № 4, стр. 59.
  3. Олсуфьев Н. Г. и Емельянова О. С. Обнаружение листереллезной инфекции у диких грызунов, насекомоядных и иксовых клещей. ЖМЭИ, 1951, № 6, стр. 69.
-

Л. А. Тимофеева и Л. И. Носкова

### О КАЧЕСТВЕ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД

В литературе, несмотря на большое количество работ по питательным средам для выращивания *V. pestis*, исследований, определяющих сроки хранения без заметного изменения их качества, нет.

Наши опыты по проверке питательных сред для выращивания *V. pestis* в зависимости от сроков их хранения показали, что только очень короткий срок среда способна сохранять первоначальное качество. Далее за этим сроком возникает необходимость значительного увеличения дозы посевного материала, а рост колоний задерживается и выраженный их морфологический характер проявляется в отдаленные сроки от момента посева. Для нас казалось необходимым проверить экспериментально качество среды в зависимости от сроков хранения и, если представится возможным, найти способы устранения причин, тормозящих успешный рост возбудителя чумы на этих средах.

Изменение свойств среды имеет особое значение для сред, хранящихся в НЗ, что может повлечь за собой снижение качества диагностических и поисковых исследований.

Вместе с этим снижение качества питательных сред замедляет рост микробов, что удлиняет срок ответа, а это в эпидемиологии чумы в конечном счете имеет решающее значение. Именно этими мотивами была обусловлена наша работа, в которой все исследования были направлены на восстановление качества питательных сред после длительного хранения. Вторым вопросом являлось разрешение задач и использования для приготовления питательных сред более доступного и более дешевого сырья.

Наблюдения проводились в течение 6 месяцев на 6 сериях импортного агара на бульоне Хоттингера, приготовленных по следующей методике:

пептон Хоттингера	1 часть
мясная вода	2 части
водопроводная вода	2 части
поваренная соль	0,5%
агар-агар	2,5%
рН агара	7,2—7,25

В первых опытах для посевов были использованы два авирулентных штамма *V. pestis* Ev и 17 и два вирулентных штамма *V. pestis* 114 и 143. В последующих опытах брались штаммы *V. pestis* Ev и 17. Методика приготовления разведений была обычной.

Высевы производились из пробирок, содержащих от 1 млн до 10 микробных клеток в 1 мл. Из каждого разведения высевалось по 0,1 мл на агаровые пластинки с испытуемыми средами, без растирания шпателью. Через двое суток производился подсчет колоний.

Высев из каждого разведения эмульсии производился на 8 чашек, по 2 чашки на каждый штамм.

Результаты высевок сведены в табл. 1.

Из таблицы видно, что на свежеприготовленных питательных средах в первые сутки их изготовления культуры чумы росли, как правило, из 10 микробных клеток. В отдельных посевах, что не представлено в таблице, палочки чумы вырастали из одной микробной клетки. На средах после 15-суточного хранения колонии возбудителя чумы вырастают уже только при посевах из 100 микробных клеток. В течение первых 1½ месяцев со дня изготовления среды на агаровых пластинках вырастают типичные для *B. pestis* колонии.

После 2-месячного хранения морфологические свойства выросших колоний меняются — они становятся меньше, уменьшается зернистость, кружевной ободок менее выражен.

На средах со сроками хранения 3½ месяца и больше рост колоний возбудителя чумы наблюдается только из высоких разведений. Колонии росли мелкими, с мелкой зернистостью и без ободка.

Характер роста и доза необходимого посевного материала резко изменялись при посевах на среду с 4-месячным сроком хранения. Через 2 суток после посева на чашку отмечался лишь начальный рост колоний в виде «платочков» и лишь на 5-е сутки вырастали мелкие оформленные колонии.

Через 5—6 месяцев хранения рост колоний мы наблюдали только из посевов 100 тысяч микробных клеток, а колонии имели вид «кружевных» платочков и лишь к 5—7-м суткам оформлялись.

Установленная нами закономерность повышения посевной дозы в зависимости от сроков хранения среды потребовала проведения проверки физико-химических свойств последней. Мы проверили влажность среды, сухой остаток и показатель pH для свежеприготовленных сред и для сред 4-месячной давности хранения. Оказалось, что старые среды несколько снизили свою влажность — с 96,5 до 95,14%. Сухой остаток соответственно повысился с 3,5 до 4,86%. Показатель pH остался прежним (7,2).

По нашему мнению, незначительная разница в физико-химических показателях свойств среды не могла явиться причиной изменения ее качества. Ряд исследователей — Ивановский, Бахрах и Шушарова — связывают изменение характера роста возбудителя чумы с изменением окислительно-восстановительного потенциала среды в сторону его повышения даже при недлительных сроках хранения.

По не зависящим от нас обстоятельствам мы не могли изучить влияние факторов роста на понижение окислительно-восстановительного потенциала, поэтому наши дальнейшие опыты были направлены на повышение качества питательных сред без проверки окислительно-восстановительного потенциала.

С этой целью мы применяли, добавляя к готовой среде, ряд экстрактов растительного и животного происхождения и различных веществ, так называемых стимуляторов роста.

Рост чумного микроба на плотных питательных средах по срокам хранения

Количество микробных клеток в посевной дозе	№№ культур В. pestis	Свежеприготовленная среда	15 суток		30 суток		1,5 месяца		2 месяца		2,5 месяца		3 месяца		3,5 месяца		4 месяца		5 месяцев		6 месяцев		
			+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+
100 тысяч	EV	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++
	17	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++
	114	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++
10 тысяч	143	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++
	EV	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++
	17	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++
1 тысяча	114	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++
	143	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++
	EV	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++
100	17	149	102	40	30	10	12	130	5	10	12	160	130	5	10	12	160	130	5	10	12	160	
	114	191	120	26	28	20	3	280	10	20	3	312	280	10	20	3	312	280	10	20	3	312	
	143	431	232	50	41	15	15	120	15	15	15	212	120	15	15	15	212	120	15	15	15	212	
10	EV	314	186	46	52	5	4	80	2	4	4	160	80	2	2	12	160	80	2	2	12	160	
	17	17	20	8	2	3	3	начальный рост	—	3	3	160	начальный рост	—	3	3	160	начальный рост	—	3	3	160	
	114	24	10	10	8	3	—	начальный рост	—	3	—	160	начальный рост	—	3	—	160	начальный рост	—	3	—	160	
10	143	51	38	18	2	2	1	5	3	2	1	160	5	3	2	1	160	5	3	2	1	160	
	EV	51	15	14	8	1	3	2	5	1	3	160	2	5	2	1	160	2	5	2	1	160	
	143	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	160	—	—	—	—	160	—	—	—	—	160	

Примечание. ++ сплошной рост;

+ обильный рост.

Цифрами обозначено среднее количество выросших колоний.

Наши опыты заставили нас остановиться на экстрактах печени и крови и более подробно изучить их действия, так как все прочие проверенные нами экстракты и факторы роста (экстракты свеклы, пшеничных отрубей, овса, никотиновая и аскорбиновая кислота, цистин, тирозин и гликокол) улучшения роста на питательных агаровых средах не дали.

В табл. 2 сведены результаты исследований по изучению экстрактов печени. Как видно из этой таблицы, добавление экстрактов печени в количестве от 5 до 20% к объему среды, хранившейся от 4 до 6 месяцев после изготовления, уменьшало посевную дозу со 100 тысяч до 10 микробных клеток, а колонии вырастали типичными для *V. pestis*. Однако необходимость добавления большого количества экстракта печени для повышения качества питательной среды вызывает ряд неудобств в практической работе.

Именно поэтому мы провели следующую серию опытов, добавляя кровь к свежеприготовленным и длительно хранящимся агаровым питательным средам.

Мы пользовались свежей и хранившейся в течение двух лет гемолизированной, дефибринированной кровью морской свинки и сухой кровью кролика.

Гемолизированная сухая кровь была получена нами из лаборатории М. П. Покровской, а также приготовлена в нашем институте. Опыты показали, что прибавление крови к свежим питательным средам не вызывало сколько-нибудь заметного повышения их качества. Совершенно обратное наблюдалось нами в случаях, когда эта кровь добавлялась к средам 4—6-месячного срока хранения.

Результаты этих опытов представлены в табл. 3.

Из таблицы видно, что при добавлении крови к длительно хранящейся среде посевная доза со 100 тысяч микробных клеток снизилась до 10 микробных клеток. Морфология колоний на среде, хранившейся в течение от 4 до 6 месяцев, в случаях без добавления крови, характеризовалась начальным ростом «платочков» на 2-е сутки, на 5-е сутки вырастали мелкие прозрачные колонии, и лишь на 7-е сутки они становились типичными для *V. pestis*.

На этих же средах, но с добавлением крови, на 2-е сутки вырастали вполне типичные колонии, неотличимые от колоний, выросших на свежеприготовленном агаре.

Подобные равноценные результаты мы имели при применении, как свежей дефибринированной и гемолизированной крови, так и гемолизированной крови, хранившейся в течение 2 лет, а также сухой гемолизированной крови (полученной из лаборатории М. П. Покровской и приготовленной в нашем институте). Но сухая гемолизированная кровь обладает существенными преимуществами перед жидкой, так как не нуждается в особом температурном режиме при хранении и более удобна для транспортировки, поэтому мы рекомендуем использовать в практической работе сухую гемолизированную кровь.

Опытным путем нами установлено, что прибавление сухой разведенной гемолизированной крови достаточно в количестве 0,01 мл на 100 мл среды (т. е. 0,001% крови).

Сухую гемолизированную кровь мы готовили следующим образом: 1 мл дефибринированной крови разводили в 9 мл 1% раствора глюкозы, разливали в ампулы по 1 мл и высушивали под глубоким



Рост *B. pestis* на агаровых средах с добавлением печеночного экстракта

Количество микробных клеток в посевной дозе	Название штаммов	Свежеприготовленный агар					Тот же агар после 4-6-месячн. хранения											
		без добавления экстрактов печени	с добавлением экстракта печени				без добавления экстрактов печени	с добавлением экстракта печени										
			5%	10%	15%	20%		5%	10%	15%	20%							
100 тысяч	EV 17	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
10 тысяч	EV 17	++	++	+	+	++	++	+	+	++	++	+	+	++	++	+	+	++
1 тысяча	EV 17	174	262	317	224	31	173	33	267	296	1	160	2	121	203	—	—	—
100	EV 17	248	394	353	239	—	21	—	28	22	—	—	—	26	15	—	—	—
10	EV 17	43	50	34	40	—	12	—	4	3	—	—	—	4	3	—	—	—
	EV 17	58	44	35	18	—	4	—	2	2	—	—	—	2	2	—	—	—
	EV 17	1	2	3	4	—	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	EV 17	5	5	2	2	—	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

П р и м е ч а н и е:

++ сплошной рост;

+ обильный рост;

— роста нет.

Цифрами обозначено среднее количество колоний, выросших на агаровых пластинках.

Рост *B. pestis* на агаровых средах с добавлением крови

Количество микробных клеток в посеваемой дозе	Название штаммов	Свежеприготовленный агар						Тот же агар после 4-6 месячного хранения					
		без добавления крови		с добавлением крови		с добавлением крови		с добавлением крови		с добавлением крови			
		1%	0,01%	1%	0,01%	0,1%	0,01%	свежей 0,01%	двухлет-ного хранения 0,01%	сухой 0,01%	дефибрированной		
100 тысяч	EV	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	17	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
10 тысяч	EV	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	17	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1 тысяча	EV	270	260	356	273	304	330	297	307	224	214	181	190
	17	284	280	380	251	321	308	298	413	187	222	190	20
100	EV	33	33	15	35	22	26	28	21	22	18	17	20
	17	24	24	27	23	21	29	26	46	21	24	17	20
10	EV	2	2	4	1	3	—	4	4	2	3	1	2
	17	1	1	4	3	1	3	3	3	1	1	2	2

Примечание: ++ сплошной рост;  
+ обильный рост;  
— роста нет.

Цифрами обозначено среднее количество колоний, выросших на агаровых пластинках.

вакуумом методом замораживания (смесь льда с поваренной солью при температуре — 21°). Процесс высушивания производился в коллаторных аппаратах, поглотителем влаги являлся гипс.

Ряд опытов был поставлен на средах, приготовленных на различных пептонах.

Пептоны являются основой наших питательных сред, и, как известно, мы получаем их из говяжьего мяса.

Помимо высокой стоимости их, в нашей практической деятельности мы можем встретиться с обстоятельствами, когда получение мяса становится по тем или иным причинам затруднительным.

Исходя из этих положений, мы готовили пептоны из сердца, легких, почек, селезенки, крови, толстых и тонких кишок, мозга, печени крупного рогатого скота и свиней.

Вышеуказанные пептоны готовились по принципу Хоттингера 1 : 2 (1 кг почек, легких, селезенки и т. д. на 2 л воды, 100 г поджелудочной железы на 1 л жидкости и 20—30 мл хлороформа). Переваривание проводилось в термостате при 37° и контролировалось нарастанием аминного азота и свободного триптофана.

По окончании переваривания, проводимого обычным способом, мы определяли общий азот по методу Кьельдаля, аминный азот — по Зеренсону, триптофан — по Пешкову, рН — по Михаэлису и процент расщепления белка. Контролем нам служил пептон, приготовленный из мяса по методу Хоттингера.

В качестве посевного материала мы использовали штаммы *V. pestis Ev* и 17.

Результаты наших исследований сведены и представлены в табл. 4.

Т а б л и ц а 4

Химические показатели пептонов

Наименование пептонов	рН	Количество общего азота (мг %)	Количество аминного азота (мг %)	Количество триптофана (мг %)	% расщепления белка
Пептон из сердца . . . . .	7,0	913,6	797,3	140	87,2
Пептон из крови . . . . .	7,0	844,3	737,1	200	87,3
„ почек . . . . .	7,0	801,2	658	180	82,1
„ легких . . . . .	7,0	501	352,8	200	70,4
„ селезенки . . . . .	7,0	774,6	672	160	86,6
„ печени крупного рогатого скота . .	7,0	866,6	700	160	80,7
„ печени свиньи . . . . .	7,0	896	778	180	86,8
„ тонких кишок . . . . .	7,0	644	360	100	55,9
„ толстых кишок . . . . .	7,0	784	592,3	30	75,8
„ мозга . . . . .	7,0	702,3	448,8	150	63,8
„ по Хоттингеру (контроль приготовленный из мяса)	7,0	890	730	180	82

П р и м е ч а н и е: Приводятся средние данные из 3 серий.

## Высеваемость чумных культур на питательных средах из различных пептонов

Количество микробных клеток в посевной дозе	Название штамма	Контроль пептон Хоттин-гера	Пептон из почек	Пептон из крови	Пептон из селезенки	Пептон из толстых кишок	Пептон из свиной печени	Пептон из печени крупного рогатого скота	Пептон из мозга	Пептон из легких	Пептон из тонких кишок	Пептон из сердца
100 тысяч	EV	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++
	17	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++
10 тысяч	EV	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	++
	17	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	++
1 тысяча	EV	116	300	134	17	186	156	114	150	36	34	121
	17	214	284	156	32	83	84	104	107	62	15	186
100	EV	12	28	19	—	18	17	13	7	5	5	12
	17	16	23	13	—	11	6	8	4	3	1	20
10	EV	3	3	2	—	—	—	—	1	—	—	4
	17	2	4	2	—	—	—	—	—	—	—	3

Примечание: ++ сплошной рост;

+ обильный рост;

— роста нет.

Цифрами обозначено среднее количество колоний, выросших на агаровых пластинках.

Из таблицы видно, что пептоны, приготовленные из тканей сердца, почек, крови, селезенки, печени крупного рогатого скота и свиней, по проценту расщепления белков были аналогичны контрольным, а некоторые и превышали его.

Опыты проверки роста *B. pestis* сведены в табл. 5.

Из таблицы видно, что палочки чумы из 10 микробных клеток растут на средах, приготовленных как из пептонов, полученных по Хоттингеру из мяса, так и из пептонов, приготовленных из сердца, почек и крови.

Сравнительные данные процента высеваемости по сравнению с контролем, равным 15,2%, оказались следующими: на среде с применением пептона из почек процент высеваемости почти вдвое превышал контрольный и равнялся 27,3; на средах, изготовленных на пептонах из сердца и крови, он был равноценным.

Среды на пептонах, изготовленных из печени крупного рогатого скота и свиней и толстых кишок дали рост из 100 микробов и более низкий процент высеваемости по сравнению с контрольными средами. Рост колоний при использовании вышеуказанных пептонов был типичным.

Среды, изготовленные на пептонах полученных из тонких кишок, мозга, селезенки и легких, дали значительно худшие результаты по проценту высеваемости.

На средах, приготовленных из селезенки и мозга, колонии вырастали мелкие, не типичные для *B. pestis*.

Таким образом питательные среды, приготовленные на пептонах, полученных из сердца и крови, оказались равноценными контрольным, а из почек — даже превышали по своему качеству.

## ВЫВОДЫ

1. На свежеприготовленных питательных средах, до 15-го дня хранения, чумные палочки, как правило, растут из 10 микробов. Рост типичных оформленных колоний наблюдается через 2 суток.

2. При хранении качество питательных сред снижается. На средах, хранившихся в течение 4 и 6 месяцев, палочки чумы вырастают только из 100 тысяч микробных клеток на 2-е сутки в виде «платочков». Рост оформленных колоний наблюдается на 5—7-е сутки.

3. Для улучшения качества питательных сред хорошими стимуляторами роста палочек чумы являются экстракты печени и крови. При добавлении к длительно сохранявшимся средам 15—20%, экстрактов печени, дефибринированной, гемолизированной (свежей и двухгодичным сроком хранения) и сухой крови, в количестве 0,01%, минимальная посевная доза снижается со 100 тысяч до 10 микробных клеток, т. е. качество среды полностью восстанавливается.

4. К средам, применяемым для практической работы отделений и отрядов, мы рекомендуем добавлять сухую гемолизированную кровь. При закладке сред в НЗ необходимо параллельно производить закладку сухой гемолизированной крови в ампулах.

5. Твердые питательные среды, приготовленные на пептонах из сердца, крови и почек, не уступают по качеству питательным средам, изготовленным из мясных пептонов по Хоттингеру, и могут быть использованы как в диагностических, так и производственных целях.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ивановский Н. Н. Общая характеристика обмена веществ чумного микроба. Труды института «Микроб», вып. I, 1951, стр. 20.
2. Бахрах Е. Э. и Шущерова Н. И. Зависимость роста чумного микроба от окислительно-восстановительного потенциала питательной среды. Труды института «Микроб», вып. I, 1951.

Л. А. Тимофеева и В. Я. Головачева

### ЦВЕТНАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ СРЕДА ДЛЯ ЧУМНЫХ МИКРОБОВ

Возбудитель чумы по биологическим свойствам имеет большое сходство с псевдотуберкулезными микробами, поэтому дифференциальной диагностике между ними уделяется большое внимание.

В настоящее время имеется ряд различных сред для дифференциальной диагностики между чумными и псевдотуберкулезными микробами, но ни одна из них не является надежной и не обеспечивает дифференциальной диагностики между этими видами микробов. Только комплексное исследование позволяет отнести изучаемого микроба к тому или иному виду, что не всегда доступно практическим работникам и удлиняет сроки окончательного ответа.

Мы использовали для дифференциальной диагностики чумных и псевдотуберкулезных микробов цветную среду, рекомендованную Равич-Биргер и Мешаловой для диагностики микробов кишечной группы, несколько модифицировав ее. Вместо индикатора тимолблау мы ввели индикатор бромтимолблау, изменяющий окраску при рН от 6 до 7, 6—8 и выше; рН среды мы установили 7,2, с тем расчетом, чтобы уловить различную интенсивность изменения реакции среды этими микроорганизмами. Принцип данной среды основан на том, что микробы, патогенные для человека, не расщепляют мочевины, потому что не обладают уреазой.

Рецепт и способ приготовления среды следующий. К 1000 мл 1% стерильного агара добавляют раствор, содержащий 100 мл стерильной дистиллированной воды, 1 г глюкозы, 10 г лактозы, 10 г мочевины и 20 мл комплексного индикатора (100 мл индикатора Андреде + 0,4 г бромтимолблау). Устанавливают рН 7,0—7,1, разливают в стерильные пробирки по 5—6 мл, стерилизуют гекучим паром (100°, 30' — три дня). Готовая среда имеет рН — 7,2—7,3. Среда скашивается так, чтобы остался небольшой столбик.

Так как среда содержит основные углеводы (глюкозу, лактозу и мочевины), она дает возможность определять способность микробов разлагать глюкозу, лактозу, мочевины, образовывать газ при ферментации и дифференцировать микроорганизмы, вызывающие более быстрое защелочение среды.

Применяя данную среду как дифференциальную, мы основывались на свойствах псевдотуберкулезного микроба, в отличие от чумного, разлагать мочевины и вызывать более быстрое защелочение среды. В данном случае индикатор Андреде остается бесцветным, а бромтимолблау окрашивает всю среду в синий цвет. С целью

проверки пригодности данной среды для дифференциальной диагностики между чумными и псевдотуберкулезными микробами мы использовали 7 чумных штаммов, имеющих в нашей лаборатории, и 50 штаммов, хранившихся в музее живых культур. Среди используемых штаммов были авирулентные и вирулентные. Кроме того, мы одновременно проверили 28 псевдотуберкулезных штаммов: 16 штаммов музейных и 12, выделенных Михайловой и Якуниной от крыс в г. Владивостоке.

Посев двухсуточных культур производился уколом в столбик и штрихом по косой поверхности. Через сутки при выдерживании в термостате при 28° все среды с посеянными псевдотуберкулезными микробами были окрашены как на скошенном агаре, так и в столбике в яркосиний цвет. Среда, в которые были посеяны чумные культуры, через сутки были окрашены следующим образом: 48 штаммов окрасили столбик в темнооранжевый цвет, скошенную поверхность в синезеленый цвет; 4 штамма изменили всю среду в зеленовато-оранжевый цвет, 5 штаммов — в темнооранжевый.

При проверке этой же среды после месячного хранения результаты были те же самые.

Приведенные опыты показывают, что данная среда позволяет четко дифференцировать в течение одних суток чумные культуры от псевдотуберкулезных. Преимущество ее перед другими средами то, что она может служить не только дифференциальной средой между данными микробами, но, как отмечают Равич-Биргер и Мешалова, она может заменять в одной пробирке короткий пестрый ряд и на вторые сутки отдифференцировать все виды протей, палочку Морганна, кишечную, паракишечные палочки, микробы из группы сальмонелл, пастерелл.

При проверке в нашей лаборатории на данной среде 13 штаммов сальмонелл (*S. typhi murium* и *S. enteritidis*) столбик на первые сутки был окрашен в темнооранжевый цвет, а скошенная поверхность в синезеленый. В столбике агара наблюдался разрыв от образуемого данным видом микробов газа. Три пастереллезные культуры, имеющиеся в нашем распоряжении, на первые сутки окрашивали столбик в зеленый цвет, скошенную поверхность в темнооранжевый. Кишечная палочка при посевах давала краснооранжевый цвет всей среде с образованием газа.

Основываясь на свойствах вышеуказанной среды, мы рекомендуем при исследовании грызунов и эктопаразитов все подозрительные на чуму колонии высевать на данную среду.

Применение этой среды сократит срок исследования, так как позволит в первые сутки при изучении подозрительных колоний отдифференцировать *V. pestis* от культур псевдотуберкулеза, а также другой микрофлоры, встречающейся у грызунов и имеющей нередко на чашках сходство по морфологии колоний с чумными микробами.

Данная среда особенно удобна в условиях полевой работы, где даже опытный работник не всегда сможет в первые сутки отдифференцировать *V. pestis* от культур псевдотуберкулеза и других иногда сходных с ними по морфологии микробов.



## ВЫВОДЫ

1. Среда, рекомендуемая нами для дифференциальной диагностики чумных и псевдотуберкулезных культур, дает четкие результаты на первые сутки выращивания.

2. Применение данной среды сокращает срок исследования, так как позволяет в первые сутки, при изучении подозрительных колоний, отдифференцировать *V. pestis* от культур псевдотуберкулеза, а также другой микрофлоры, встречающейся у грызунов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Е. Д. Равич-Биргер и В. П. Мешалова. К методике определения микробов кишечной группы. «Лабораторное дело», 1955, № 1.

Б. А. Ерман

### ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ГИДРОЛИЗАТА ХОТТИНГЕРА НА МОРФОЛОГИЮ КОЛОНИЙ ЧУМНОГО МИКРОБА

Вопрос о влиянии различных концентраций гидролизата Хоттингера на морфологию колоний чумного микроба имеет важное теоретическое и практическое значение при приготовлении питательных сред. В литературе Бахрах, Крайнова и Михайлова (1951) описали, какие концентрации гидролизата Хоттингера являются оптимальными для выхода микробных клеток на единицу объема среды.

Настоящая работа была предпринята с целью выяснить влияние различных концентраций гидролизата Хоттингера на морфологию колоний чумного микроба.

#### Методика работы

Гидролизаты для опытов были приготовлены из говяжьего мяса по методу Хоттингера. В качестве фермента использовалась бычья поджелудочная железа. Гидролиз производился при температуре 35—40°C в течение 10 дней.

Всего было приготовлено 7 серий основных гидролизатов. Химические показатели их приведены в таблице 1.

Т а б л и ц а 1

Содержание триптофана, общего и аминного азота  
 в основных гидролизатах Хоттингера

Серия гидролизата	Триптофан мг %	Аминный азот мг %	Общий азот мг %	% аминного азота к общему азоту
1	200	660	1275	51,7
2	180	580	1275	45,5
3	170	513	1322	38,8
4	220	670	1315	50,9
5	180	630	1188	53
6	200	670	1299	51,5
7	200	660	1462	45,1

Общий азот определялся по методу Кьельдаля,<sup>1</sup> аминный азот — формольным титрованием, а триптофан — по методу Пешкова.

Из каждой серии свежего гидролизата в разведении 1 : 1; 1 : 2; 1 : 4; 1 : 5; 1 : 6; 1 : 7 и 1 : 8 (гидролизат разводился водопроводной водой в указанных соотношениях) готовились бульоны. В бульон добавлялось 2,5% импортного агар-агара и устанавливалась реакция среды (рН = 7,1). Среда стерилизовалась при температуре 120° 30 минут. Для изучения влияния различных концентраций гидролизатов использовались штаммы *V. pestis* 899, 143, 77 и Ev.

На пластинки свежеприготовленных агаров, содержащие различные концентрации гидролизатов, производился посев 50 микробных клеток двухсуточной агаровой культуры испытуемых штаммов.

Посевы выдерживались при температуре 25—28°C.

### Результаты наблюдений

На агарах, содержащих различные концентрации гидролизатов в разведениях 1 : 1; 1 : 2 и т. д. до 1 : 8, из 50 микробных клеток через 48 часов вырастает примерно одинаковое количество колоний: *V. pestis* Ev — 15—20 колоний, *V. pestis* 899, 143 и 77 — около 30 колоний.

По мере уменьшения концентраций гидролизатов в агарах размеры колоний увеличиваются, а зернистость, выпуклость и кружевная зона уменьшаются. Так, диаметр колоний через 48 часов на агарах, содержащих гидролизаты в разведении 1 : 7 и 1 : 8 (рис. 4 и 5), в 2—3 раза больше диаметра колоний, выросших за то же время на агарах, приготовленных из гидролизатов в разведении 1 : 1 и 1 : 2 (рис. 1 и 2).

Чумные микробы на агаровых пластинках, приготовленных из гидролизатов в разведении 1 : 1 и 1 : 2 (рис. 1 и 2), образуют характерные колонии с крупнозернистым выпуклым центром и хорошо выраженной кружевной зоной.

Эти же микробы на агаровых пластинках, приготовленных из гидролизатов в разведении 1 : 7 и 1 : 8 (рис. 4 и 5), образуют нехарактерные колонии с мелкозернистым плоским центром и едва заметной кружевной зоной.

Приведенные наблюдения характеризуют подавляющее большинство колоний через 48 часов роста.

В отношении кружевной зоны необходимо оговориться.

Штамм *V. pestis* 899 на агаровых пластинках из всех разведений гидролизатов не имел выраженной кружевной зоны.

На агаровых пластинках, приготовленных из 4-й серии гидролизата в разведениях 1 : 6, 1 : 7 и 1 : 8, единичные колонии *V. pestis* Ev имели опромные кружевные зоны. Остальные колонии имели кружевные зоны, характерные для этих разведений, в виде едва заметного ободка.

Исследованные гидролизаты обеспечивали на агаре типичную морфологию колоний чумного микроба из разведений 1 : 3—1 : 4, что примерно соответствует 300 мг общего азота, 150 мг аминного азота и 40 мг триптофана в 100 мл питательной среды.

<sup>1</sup> Общий азот был определен сотрудником биохимической лаборатории А. А. Токаревой.

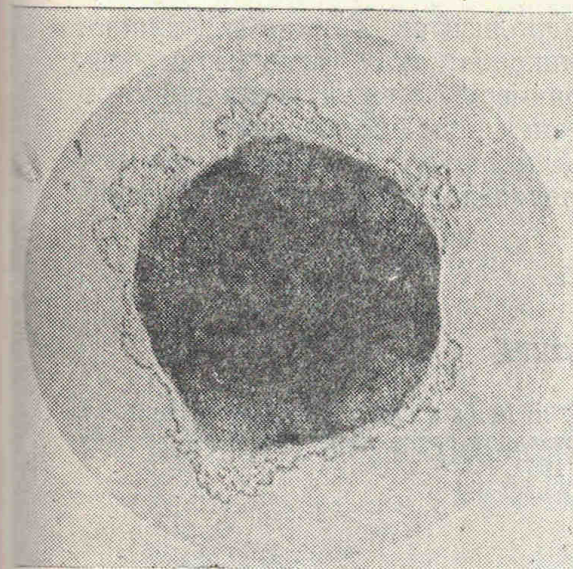


Рис. 1

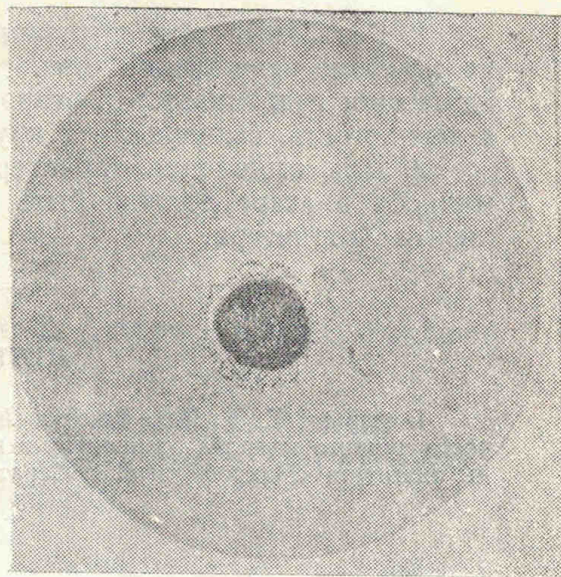


Рис. 2

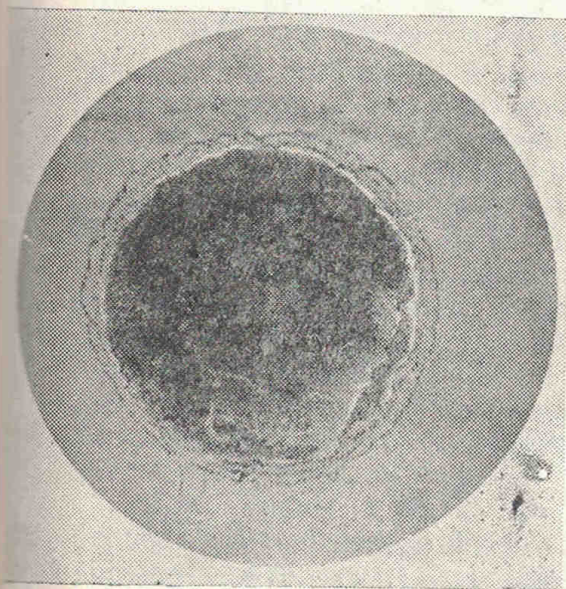


Рис. 3

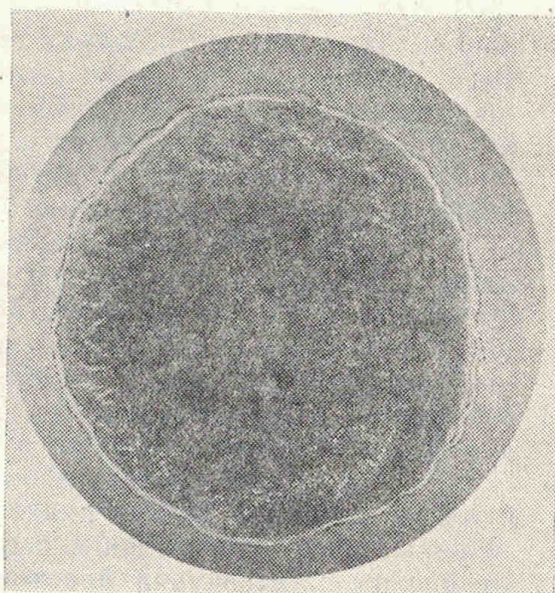


Рис. 4

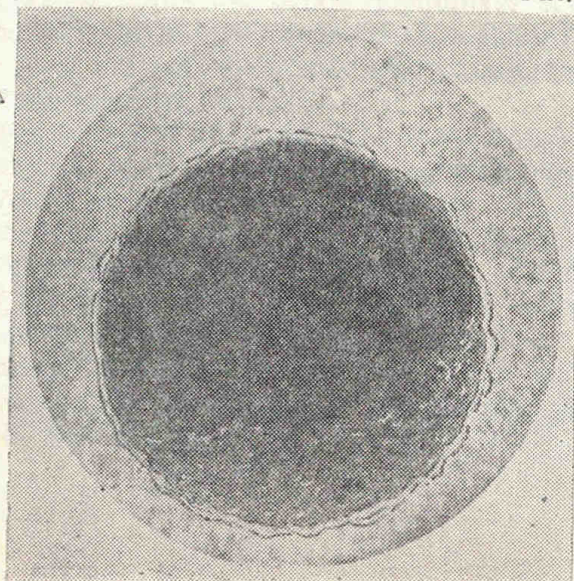


Рис. 5

## ВЫВОДЫ

1. Различные концентрации гидролизатов Хоттингера влияют на морфологию колоний чумного микроба: при уменьшении концентрации гидролизатов в агарах размеры колоний увеличиваются, а зернистость, выпуклость и кружевная зона уменьшаются.

2. Для выявления характерной морфологии колоний чумного микроба в агаре должна быть определенная концентрация гидролизата Хоттингера.

---

## ЛИТЕРАТУРА

Бахрах Е. Э., Крайнова А. Н. и Михайлова А. П. Зависимость роста чумного микроба от наличия в питательной среде азотистых веществ. Труды института «Микроб», вып. 1, Саратов, 1951.

---

Н. Д. Алтарева и Е. П. Потапова

### К ВОПРОСУ О ДЛИТЕЛЬНОСТИ СОХРАНЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУЛЯРЕМИИ В ИММУННОМ ОРГАНИЗМЕ БЕЛЫХ МЫШЕЙ

Известно, что у зараженных туляремией животных и переболевших людей вырабатывается длительный и напряженный иммунитет. Характер этого иммунитета ранее рассматривался как состояние преимунии (Б. Я. Эльберт и Н. А. Гайский, 1941; Гайский, 1944), при котором иммунитет длится до тех пор, пока микроб находится в организме. В настоящее время различают две фазы противотуляремийного иммунитета: фазу нестерильную, инфекционную, ограниченную во времени, когда возбудитель находится в организме, и фазу постинфекционную, длительную, когда устойчивость организма к реинфекции обеспечивается его перестройкой (И. Н. Майский, 1953; В. П. Джанполодова, 1949).

О судьбе вакцинной культуры в организме животного и человека имеется весьма мало сведений. Мало известно и о судьбе вирулентного возбудителя туляремии, попавшего в иммунный организм (И. Н. Майский, 1953). В литературе имеются отдельные сведения (В. П. Джанполодова, 1948), указывающие на уничтожение вирулентного микроба туляремии в иммунном организме кролика путем фагоцитоза, осуществляемого макрофагами.

И. С. Тинкер и М. С. Дрожевкина (1949) в опытах выявили барьерно-фиксирующую функцию первичного комплекса у вакцинированных животных, благодаря которой вирулентный микроб не может проникнуть в глубь организма.

В работах И. С. Тинкера, основывающихся на экспериментах, указывается на фагоцитарную активность лейкоцитов в иммунном организме, что создает неблагоприятные условия для развития вирулентного туляремийного микроба.

На активный процесс фагоцитоза, начинающийся в ранние сроки, в ретикулярной ткани иммунизированного против бруцеллеза организма, указывают Вершилова и Кокорин (1954). По-видимому, как при бруцеллезе, так и при туляремии фагоцитоз играет решающую роль в уничтожении суперинфекции и реинфекции. Однако всегда ли при туляремии фагоцитоз является завершенным, в литературе мы исчерпывающих данных не встречали.

Целью наших опытов являлось выяснение сроков сохранения вирулентного микроба туляремии в иммунном организме белых мышей после их заражения.

Опыты проводились нами на 95 иммунизированных живой вакциной белых мышах, в последующем по истечении месяца перенесших контрольное заражение вирулентным штаммом. Все контрольные мыши при этом погибли на 6—8-й день, т. е. в сроки, обычные для гибели от туляремийной инфекции, с характерной патолого-анатомической картиной и выделением в посевах из органов возбудителя туляремии. Исследование белых мышей в наших опытах производилось в сроки, отдаленные от момента заражения.

В опытах белые мыши были разделены на три равные группы. Первая группа — 32 мыши — исследовалась без применения методов провокации. Она являлась контрольной в наших опытах.

Вторая группа, в таком же количестве, исследовалась с применением алкоголя с целью обострения инфекции, если таковая имеется. 10% алкоголь в количестве 6,6 мл был введен мышам под кожу от 0,1 мл в нарастающих дозах в течение 5—10 дней.

В третьей группе — 31 мышь — с той же целью была применена провокация охлаждением. Мыши до вскрытия в течение трех недель содержались в банках, помещенных в баки, наполненные снегом. Температура в банках равнялась + 2° — 4°С.

Перед исследованием мыши убивались хлороформом и из их органов производились посева на питательные среды с параллельной постановкой биологических проб. При отрицательных результатах в последних производились дальнейшие пассажи на белых мышах. Результаты получения культур в отдаленные с момента заражения сроки от мышей, предварительно вакцинированных, показаны в табл. 1.

Т а б л и ц а 1

Результаты высева от иммунизированных белых мышей в отдаленные сроки после их заражения

Метод исследования	Количество белых мышей		Сроки вскрытия после контрольного заражения (в месяцах)										% выделения культур
	всего	давших положитель-ные высе-вы	3,5	4	5,5	6	7	10	10,5	11	11,5	12	
I группа без провокации	32	5	$\frac{5}{2}$	—	$\frac{8}{2}$	$\frac{6}{1}$	$\frac{4}{0}$	—	—	$\frac{5}{0}$	$\frac{2}{0}$	$\frac{2}{0}$	15,7
II группа провокация ал- коголем . . .	32	19	—	$\frac{4}{4}$	$\frac{8}{6}$	—	$\frac{10}{5}$	$\frac{2}{2}$	$\frac{5}{0}$	—	$\frac{3}{2}$	—	60
III группа провокация холодом . . .	31	8	—	$\frac{7}{4}$	$\frac{6}{3}$	—	$\frac{9}{1}$	—	$\frac{9}{0}$	—	—	—	26

Примечание: Числитель—количество вскрытых белых мышей; знаменатель—число мышей, от которых выделена культура.

Из таблицы видно, что нам удавалось выделять возбудителя туляремии у предварительно иммунизированных белых мышей, спу-

стя длительное время после их заражения. Для обнаружения микроба в их организме потребовалось применение провокации. Наибольшее число культур получено от белых мышей II группы, т. е. от спровоцированных алкоголем. От них мы выделяли микроба на протяжении наиболее продолжительного периода. Нужно отметить, что из этой группы животных до окончания срока провокации погибло 14 мышей, из них от 9 была выделена культура прямым посевом, от одной в первом пассаже; от 4 микроб не был выделен (наблюдения велись в четырех пассажах). Из III группы мышей до окончания срока провокации погибло только 3; из них от 2 была выделена культура в первой биопробе; от третьей микроб не выделен ни прямым посевом ни в биопробах. Невыделение микробов туляремии от опытных мышей в прямом посеве и путем пассажей еще не доказывает отсутствия микроба в организме. Известно, что выделение возбудителя туляремии из организма человека и животных не только прямым посевом, но и путем биологических проб представляет известные трудности. Получение культур требует наличия большого количества микробов в исследуемом материале. Выделение культур из органов путем прямого посева возможно при сильной степени обсеменения их. Это явление, по-видимому, мы имели при провокации алкоголем, что подтверждает табл. 2.

Т а б л и ц а 2

Влияние методов провокации на выявление инфекции в отдаленные сроки

Метод исследования	Количество белых мышей	Выделено культур					
		всего	прямым посевом	I пассаж	II пассаж	III пассаж	IV пассаж
I группа Без провокации . .	32	5	—	1	2	2	—
II группа Провокация алкоголем	32	19	11	6	2	—	—
III группа Провокация холодом	31	8	—	3	4	—	1

Данные таблицы указывают, что свыше половины всех выделенных культур от животных II группы были получены прямым посевом, остальные—в первом и втором пассажах. От животных других двух групп прямым посевом не было получено ни одной культуры. Кроме того, культуры от них выделялись в третьем и четвертом пассажах.

Из двух примененных нами методов провокации наиболее эффективным в выявлении инфекции оказалось введение под кожу 10% алкоголя. Это, по-видимому, объясняется более сильным действием его на организм, нежели раздражение охлаждением.

Возможность провокации туляремии у внешне здоровых животных испытывалась А. А. Айсели (1951). Для обнаружения инфекции у зараженных серых крыс в отдаленные от заражения сроки этот исследователь испытал действие авитаминовых кормов в ком-



бинации с охлаждением организма животных. Последние погибали, но культуру выделить не удалось за исключением одного случая, когда микроб был выделен путем пассажа.

Без применения провокации нам в своих опытах удалось выделить культуру от предварительно иммунизированных белых мышей только в первые шесть месяцев после их заражения вирулентной культурой и в небольшом проценте случаев—15,7%, тогда как с применением методов провокации в виде алкоголя мы выделяли культуру в 60% случаев, а при содержании животных в холоде — в 26%.

Для выделения культур в посевах нами использовались селезенка и костный мозг, как органы, из которых имеется наибольшая вероятность получить положительные результаты в отдаленные сроки. Культура выделялась в равной степени как из селезенки и костного мозга в отдельности, так и одновременно.

Патологоанатомические изменения во внутренних органах наблюдались лишь у части животных II группы, в которой применялась провокация алкоголем. Они выражались увеличением в 2—3 раза селезенки. Эти изменения наблюдались у 8 из 32 мышей этой группы. Однако несмотря на наличие изменений во внутренних органах (увеличение селезенки) из 8 дали культуру в прямом посеве 7 мышей, у одной она была выделена в 1 пассаже. Вместе с тем при отсутствии видимых патологоанатомических изменений от 3 мышей этой группы туляремийный микроб был выделен прямым посевом. У животных остальных двух групп видимых патологоанатомических изменений во внутренних органах не отмечалось. Культуры прямым посевом от них не были получены. Они меньше выделялись и в 1 пассаже, а больше в последующих.

Тинкер и Дрожевкина (1949) утверждают, что вирулентные микробы в иммунном организме не проникают в глубь организма, они фиксируются в пределах первичного комплекса даже тогда, «когда заражение вирулентным штаммом производится за пределами области приложения вакцинного материала».

Другие исследователи (Джанполодова, 1948) указывают на уничтожение вирулентного микроба туляремии в иммунном организме путем фагоцитоза. Каков же характер выделенной нами культуры? Является ли эта культура вакцинной, или же вирулентные микробы все же проникли в глубь иммунного организма и там сохранились длительное время?

Для выяснения этого нами были изучены все выделенные культуры. Они были типичными для возбудителя туляремии культурами как по морфологии, так и по другим свойствам. В мазках, окрашенных по Граму, они представлялись мелкими грам-негативными кокками; в висячей капле неподвижны; росли на плотной желточ-ной среде в виде шагреновой поверхности. Хорошо росли и на среде Ухалова; на простых средах (мясо-пептонном агаре и в бульоне) роста не давали; хорошо эмульгировались в физиологическом растворе. Агглютинировались специфической сывороткой в титрах от 1 : 800 до 1 : 3200.

Некоторые из культур, выделенных после длительного их пребывания в организме белых мышей, проявляли ферментативную активность. Так, например, из 5 штаммов I группы 4 разлагали следующие углеводы: галактозу — два штамма, с образованием

слабой кислоты, арабинозу и левулезу — один штамм, также с образованием слабой кислоты, и один штамм — левулезу с ярко выраженным кислотообразованием. Из II группы из 19 выделенных штаммов биохимическая активность изучена у 18 штаммов, из них три штамма оказались биохимически активными: два из них хорошо разлагали глицерин и глюкозу и слабо арабинозу и левулезу, один же штамм ферментировал только левулезу в очень слабой степени. Из 8 выделенных штаммов от белых мышей III группы ни один не ферментировал углеводов.

В отношении молока и желатины эти культуры вели себя индифферентно.

По вопросу биохимической активности микроба туляремии в литературе имеются разноречивые сведения.

О. С. Емельянова (1951), давшая по этому вопросу сводный материал как по отечественным, так и зарубежным исследованиям, указывает, что возбудитель туляремии может ферментировать такие углеводы, как глицерин, глюкоза, мальтоза, манноза, левулеза и декстрин.

Этот вопрос, несомненно, еще нуждается в доработке. По нашему мнению, длительность пребывания микроба в иммунном организме, являющемся необычной средой для его существования, могла изменить ферментативную способность микроба как в ту, так и в другую сторону.

Из общего количества выделенных нами культур у 14 была испытана вирулентность. Все они вызывали гибель белых мышей при введении 10 микробов по общепринятому стандарту. Из выделенных культур, каждой в отдельности, был приготовлен аллерген и испытан на иммунизированных морских свинках. Все они оказались хорошими аллергенами. Они вызывали достаточно выраженную реакцию при их внутрикожном введении, в некоторых случаях по степени выраженности даже превышающую реакцию от введения обычного тулярина.

Исходные данные штамма 64 «к», который был применен в опыте контрольного заражения иммунизированных белых мышей, не отличались по существу от вышеописанных свойств выделенных нами культур после длительного пребывания их в организме.

Данные наших опытов показывают, что возбудитель туляремии, внедрившись в иммунный организм, может сохраняться в ряде случаев длительное время. Если, как утверждают вышеуказанные исследователи, фагоцитоз и имеет место в иммунном организме при попадании в него вирулентного микроба, то весьма вероятен наряду с полным фагоцитозом и незавершенный фагоцитоз, в силу чего в тех или иных количествах вирулентный микроб из первичного комплекса способен проникнуть в глубь организма и задержаться на довольно длительный срок, а возможно и размножиться в нем.

Выявить присутствие вирулентного микроба в иммунном организме можно, как показали наши опыты, в отдаленные после заражения сроки. Однако с большей вероятностью это можно осуществить, применяя провокацию. В виде провокации следует применять средства, являющиеся наиболее сильными раздражителями нервной системы. В наших опытах таким раздражителем явился 10% алкоголь, от которого белые мыши тотчас после введения проявляли

значительную активность, а затем у них наступало состояние депрессии. Ослабление организма у белых мышей этой группы под действием алкоголя наступало быстрее, чем у животных III группы. Следствием этого было и проявление наличия инфекции у значительного количества животных — наличие патологоанатомических изменений в селезенке и выделение культур.

Охлаждение животных путем содержания банок в снегу, несмотря на низкую температуру, не оказывало, по-видимому, сильного действия на организм. В силу этого выделение культур у животных III группы было более редким, отсутствовали и видимые патологоанатомические изменения во внутренних органах животных этой группы. Еще менее инфицированных было выявлено среди животных I группы, которые исследовались без применения провокации.

Таким образом, в иммунном организме в сроки отдаленные от заражения вирулентным штаммом, при наличии резкого раздражителя может развиваться туляреимийная инфекция.

### ВЫВОДЫ

1. В иммунном организме белых мышей после их заражения вирулентным микробом в ряде случаев может выявиться наличие инфекции в сроки, отдаленные от момента заражения (до 11,5 месяцев — срок наблюдения).

2. Методом выявления наличия инфекции в наших опытах явилась провокация введением под кожу в течение нескольких дней 10% алкоголя.

3. Раздражение охлаждением в меньшем проценте случаев дало возможность выявить наличие инфекции в организме белых мышей и еще меньше возможности обнаружить ее без применения провокации.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Айсели А. А. Экспериментальная туляремия у серой крысы. Известия Иркутского гос. противочумного института, т. IX, 1951, стр. 5—28.
2. Вершилова П. А. и Кокорин И. Н. Морфологическая и бактериологическая характеристика вакцинного процесса при бруцеллезе. ЖМЭИ, 1954, № 1, стр. 7—13.
3. Гайский Н. А. Туляреимийная вирус-вакцина, ее получение и применение. Изд. I. Иркутск, 1944.
4. Жанполадова В. П. О природе иммунитета при туляремии. Сообщение III и IV. ЖМЭИ, 1948, № 1.
5. Жанполадова В. П. Об иммунитете при туляремии. ЖМЭИ, 1949, № 2, стр. 33—34.
6. Здродовский П. Ф. Бруцеллез. Изд. АМН СССР. Москва, 1948, стр. 179—193.
7. Емельянова О. С. Микробиология туляремии. Изд. АМН СССР. Москва, 1951, стр. 91—94.
8. Майский И. Н. Иммунология туляремии. Изд. АМН СССР. Москва, 1953.

9. Тинкер И. С. и Дрожевкина М. С. К патогенезу экспериментальной туляреимийной инфекции. Сообщение II. Распространение микробов туляремии в организме активно иммунизированных экспериментальных животных. Рефераты научно-исследовательских работ Ростовского-на-Дону гос. противочумного института, т. VIII, 1949, стр. 103—111.

10. Тинкер И. С. и Дрожевкина М. С. К патогенезу экспериментальной туляреимийной инфекции. Сообщение I. Распространение микробов туляремии в организме экспериментальных животных. Труды Ростовского-на-Дону гос. противочумного института, т. VII, 1948, стр. 45—63.

В. Л. Титова и Е. П. Потапова

## К ВОПРОСУ О МЕХАНИЗМЕ ИММУНИТЕТА ПРИ ТУЛЯРЕМИИ

### Сообщение I. Иммуитет при вакцинации аттенуированным штаммом в сочетании с введением антибактериальных доз стрептомицина

Несмотря на успешное разрешение вопроса специфической профилактики туляремии в виде иммунизации аттенуированным штаммом, характер иммунитета до конца не изучен. Сущность процесса иммуногенеза, обеспечивающего профилактическую ценность прививок, не расшифрована. Это отставание теоретической стороны дела от практического решения вопроса объясняется сложностью процесса иммуногенеза при туляремии.

Как известно, относительно характера иммунитета при туляремии существует два противоположных взгляда. Согласно одному из них иммунитет при туляремии рассматривается, как следствие сосуществования микро- и макроорганизма. Эльберт и Гайский, являясь сторонниками этой точки зрения, аргументируют ее теми фактами, что 1) напряженный и длительный иммунитет создается при введении в организм восприимчивых животных только аттенуированных микробных клеток; 2) состояние иммунитета у вакцинированных животных сопровождается наличием в организме введенного аттенуированного штамма спустя длительные сроки после иммунизации.

С другой стороны, возможность создания определенного вакцинирующего эффекта с помощью формализированных, т. е. убитых микроорганизмов, а также термоекстрактов указывает на стерильную природу иммунитета.

В исследованиях Майского показано, что инъекцией антигена, приготовленного из большой массы туляремиальных микроорганизмов, можно вызвать состояние иммунитета, измеряемое резистентностью животных к 1000 минимальных смертельных доз культуры.

В последнее время относительно природы иммунитета предложено компромиссное объяснение, согласно которому иммуногенез при туляремии складывается из двух фаз: нестерильной и стерильной. Прогрессирующее развитие первоначального нестерильного иммунитета ведет к образованию иммунитета стерильного.

Так, Джанполодова в опытах на кроликах обнаруживала возбудителя туляремии до 12 месяцев, а затем, в фазе постинфекционного иммунитета ей выделить возбудителя не удавалось, даже путем биопроб.

Таким образом, нет окончательно сформулированного и полностью экспериментально обоснованного представления о характере противотуляремийного иммунитета. Между тем этот вопрос очень важен для дальнейшего развития теории и практики специфической профилактики туляремии.

Используемые до настоящего времени методические приемы при изучении этого вопроса не представили бесспорных фактов в пользу безоговорочного признания какой-либо из указанных выше точек зрения. Поэтому этот вопрос нуждается в дополнительных исследованиях, проводимых в новых методических условиях.

Предпосылкой для нашей работы явились исследования, установившие антибактериальную эффективность стрептомицина в отношении туляремийного микроба.

Исходя из этого факта, мы считали целесообразным изучить процесс образования иммунитета при вакцинации аттенуированным штаммом в условиях насыщения организма химиотерапевтическими дозами стрептомицина.

Наши экспериментальные соображения сводились к следующему. Если иммунитет при туляремии является по своей природе нестерильным, то опытные животные, получившие одновременно с вакциной стрептомицин, который дает, как это установлено, полную стерилизацию организма, не должны приобрести иммунитета. Чем больше будет интервал между моментом вакцинации и началом введения стрептомицина, тем больше должен быть выражен иммунитет.

Если такая зависимость не будет установлена, то это укажет на неинфекционную природу иммунитета.

Предполагалось также, что эти опыты помогут нам ответить на вопрос о длительности антигенного раздражения, необходимого при иммунизации аттенуированным штаммом, для создания состояния невосприимчивости.

Исходя из вышеизложенного, опыты мы поставили в следующем плане: 1) установление антибактериальной эффективности стрептомицина в отношении культуры вакцинного штамма туляремийного микроба *in vitro*; 2) установление максимально переносимой дозы стрептомицина экспериментальными животными; 3) химиотерапевтическая эффективность стрептомицина в опытах на белых мышах, вакцинированных аттенуированным штаммом; 4) иммунологическая эффективность вакцинации аттенуированным штаммом в условиях введения терапевтических доз стрептомицина в течение цикла иммунизации.

#### **Установление антибактериальной эффективности стрептомицина *in vitro***

В ряд пробирок с 2 мл 1-миллиардной суспензии туляремийного микроба штамма № 15 добавляли восходящие дозы стрептомицина в объеме 0,5 мл, а именно: 100 ед., 500 ед. и т. д., производили тщательное встряхивание и смесь помещали в термостат при

37°. Спустя 4 и 18 часов инкубации в указанных условиях, были произведены высевы из каждой пробирки на желточную среду. Высеивали неразведенную смесь и в разведениях до  $10^{-10}$  с интервалом в  $10^{-1}$ . Посевы выдерживали в термостате при 37° в течение 10 дней, наблюдение за ростом производили каждые 2 дня. Результат опыта представлен в табл. 1.

Т а б л и ц а 1

Действие стрептомицина на туляремийные  
микробы *in vitro*

№ штам- ма	Доза куль- туры	Экспози- ция кон- такта при 37°	Из какого разведения появился рост						Контроль
			доза стрептомицина						
			100 ед.	500 ед.	1000 ед.	5000 ед.	10000 ед.	50000 ед.	
№ 15	1 млрд.	4 часа	$10^{-6}$	$10^{-6}$	$10^{-6}$	$10^{-6}$	$10^{-6}$	$10^{-6}$	
"	500 млн.	"	$10^{-4}$	$10^{-4}$	$10^{-3}$	$10^{-2}$	$10^{-2}$	роста нет	
"	250 млн.	"	$10^{-4}$	$10^{-4}$	$10^{-3}$	$10^{-1}$	$10^{-1}$	"	
"	1 млрд.	"	без стрептомицина						$10^{-6}$
"	500 млн.	"	"	"	"	"	"	"	$10^{-4}$
"	1 млрд.	18 часов	$10^{-4}$	$10^{-4}$	$10^{-4}$	роста нет	роста нет	роста нет	
"	500 млн.	"	$10^{-3}$	$10^{-3}$	роста нет	"	"	"	
"	250 млн.	"	роста нет	роста нет	"	"	"	"	
"	1 млрд.	"	без стрептомицина						$10^{-5}$
"	500 млн.	"	"	"	"	"	"	"	$10^{-3}$
"	250 млн.	"	"	"	"	"	"	"	$10^{-3}$

Из приведенных данных видно, что высев из смеси, содержащей 50 000 ед. стрептомицина и 500 млн. микробных тел туляремийной культуры аттенуированного штамма, после 4-часовой экспозиции роста не дает.

Бактериологический эффект усиливается с увеличением экспозиции: так, при 18-часовой экспозиции остается стерильным высев смеси 250 млн. микробных тел и 100 ед. стрептомицина, 500 млн. микробных тел и 1000 ед. стрептомицина, 1 млрд. микробных тел и 5 тысяч единиц стрептомицина.

Таким образом, антибактериальное действие стрептомицина в отношении культуры аттенуированного штамма выражено отчетливо, что полностью совпадает с материалами Цветковой и Тинкера.

Установив этот факт, мы приступили к опытам выявления терапевтического действия стрептомицина *in vivo*.

Предварительно была установлена максимально переносимая доза стрептомицина. Оказалось, что белые мыши переносят двукратное введение 2,5 тыс. единиц стрептомицина без видимой реакции.

Критерием химиотерапевтической эффективности стрептомицина в опытах на белых мышах с аттенуированным штаммом, мы избрали высеваемость культуры из внутренних органов, просмотр

мазков-отпечатков и патогистологическое исследование органов.<sup>1</sup> Опыт был выполнен в следующем плане: группе белых мышей в количестве 25 штук было введено под кожу 1000 микробных тел вакцинного штамма № 15 по бактериальному оптическому стандарту. В момент заражения и затем ежедневно эти животные получали подкожные инъекции 5 тыс. ед. стрептомицина в сутки.

Из этой группы мышей ежедневно отбирали по 1 здоровому экземпляру и исследовали у них внутренние органы и кровь на наличие культуры по обычной методике.

Эти исследования показали, что у мышей, получивших стрептомицин, не удается выделить из внутренних органов и крови культуру вакцинного штамма.

Параллельно проводили высевы из органов контрольных животных, получивших ту же дозу вакцинного штамма без введения стрептомицина. При этом во всех случаях были получены положительные результаты.

Убедившись в химиотерапевтической эффективности стрептомицина *in vivo*, выражением которой является отсутствие микробов вакцинного штамма во внутренних органах, мы поставили основной опыт по выявлению иммунологического состояния животных, получающих стрептомицин в период иммунизации. Этот опыт был выполнен следующим образом. Партии мышей в 125 штук вводилось подкожно 1000 микробных тел по стандарту ЦГНКИ, затем эти мыши были разделены на 5 групп, которые в разные сроки после вакцинации получали стрептомицин в течение 12 дней по 5 тысяч единиц ежедневно, при этом группа I начинала получать стрептомицин в день иммунизации, группа II—через 2 суток, группа III—через 4 суток и группа IV—через 6 суток. Пятая группа была контрольной. По истечении 21 дня с момента иммунизации была испытана резистентность этих животных к заражению 1000 DLM вирулентной культуры.

До этого из каждой группы мышей ежедневно, начиная с первых суток после введения стрептомицина, убивали по одному здоровому экземпляру, производили высеv на плотную желточную среду из печени, селезенки, легких, крови, регионарных лимфатических узлов, делали мазки-отпечатки из перечисленных органов, а также передавали органы для последующего гистологического исследования.

Результаты этих исследований, представленные в табл. 2, показывают, что мыши, получившие стрептомицин после вакцинации, остаются специфически стерильными, поскольку это возможно выявить принятыми методами исследования (высев из органов на питательную среду, мазки-отпечатки).

Результаты испытания устойчивости к 1000 DLM вирулентного штамма № 924 представлены в табл. 3.

Из полученных данных видно, что из 4 мышей, вакцинированных подкожно аттенуированным штаммом № 15 все оказались резистентными к 1000 DLM, в то время как мыши, иммунизированные

<sup>1</sup> Патогистологические данные по этому материалу нами будут опубликованы отдельным сообщением.



Высеваемость туляремийных микробов из органов белых мышей в опытах многократного введения стрептомицина

№ групп мышей	Вакцинирующая доза туляремийного штамма 15	Введение стрептомицина		Высеваемость туляремийного микроба				
		доза	интервал с момента вакцинации	лимфатический узел	селезенка	печень	легкие	кровь
I	1000 микробов	5000 ед.	через 1 час	—	—	—	—	—
II	"	"	через 2 суток	—	—	—	—	—
III	"	"	через 4 суток	—	—	—	—	—
IV	"	"	через 6 суток	—	—	—	—	—
V	"	без стрептомицина	контроль	+	+	+	—	—

Т а б л и ц а 3

Состояние иммунитета белых мышей в опытах многократного введения стрептомицина

№ групп мышей	Введение стрептомицина		Доза вирулентной культуры	Количество мышей	Испытание резистентности	
	доза	интервал с момента вакцинации			пало от туляремии	выжило
I	5000 ед.	через 1 час	1000 микробов	5	5	—
II	"	через 2 суток	"	11	11	—
III	"	через 4 суток	"	10	10	—
IV	"	через 6 суток	"	5	3	2
V	без стрептомицина	контроль	"	4	—	4

ные при тех же условиях, но получавшие стрептомицин ежедневно в течение 12 дней, начиная с первых суток после вакцинации, через 2 и 4 суток погибают от той же дозы вирулентной культуры.

Из 5 мышей, которым в течение первых 6 дней не вводился стрептомицин, 2 оказались устойчивыми к вирулентной культуре.

Полученные данные показывают что введение стрептомицина в период иммунизации препятствует развитию иммунитета. Этот факт может быть отнесен за счет химиотерапевтического действия стрептомицина, тормозящего размножение вакцинного штамма в организме.

Таким образом, это явление можно рассматривать как доказательство инфекционного характера противотуляремийного иммунитета при вакцинации аттенуированным штаммом.

## ВЫВОДЫ

1. Стрептомицин обладает выраженным антибактериальным действием в отношении аттенуированного штамма туляремиального микроба.

2. При многократном введении стрептомицина вслед за подкожной иммунизацией вакцинный штамм в организме иммунизированных мышей обнаружить не удается.

3. Вместе с тем белые мыши, вакцинированные аттенуированным штаммом Гайского и получавшие в период иммунизации стрептомицин, оказываются восприимчивыми к вирулентному штамму туляремиального микроба. При этом степень восприимчивости животных к вирулентному штамму находится в прямой зависимости от интервала между вакцинацией и введением химиотерапевтических доз стрептомицина.

4. Отсутствие иммунитета или заторможенное его развитие у животных, вакцинированных аттенуированным штаммом с последующим многократным введением стрептомицина, может быть объяснено антибактериальным действием стрептомицина *in vivo*. Это указывает на то, что присутствие и размножение микробных клеток в организме является необходимым условием противотуляремиального иммунитета.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Гайский Н. А., Эльберт Б. Я. О механизме инфекции и иммунитета при экспериментальной туляремии. ЖМЭИ, 1941, № 12.
2. Жанпаладова В. П. О природе иммунитета при туляремии. Сообщение IV, ЖМЭИ, 1948, № 1.
3. Майский И. Н. Иммунология туляремии. Медгиз, 1953.
4. Тинкер И. С. Иммунологические основы специфической профилактики туляремии. Докторская диссертация, Ростов н/Д, 1951.

Н. Г. Олсуфьев и М. П. Терещенко

### ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ МЕТОДА МНОГОКРАТНЫХ ПАССАЖЕЙ НА БЕЛЫХ МЫШАХ ПРИ ВЫДЕЛЕНИИ КУЛЬТУР *Bact. tularensis* РАЗЛИЧНОЙ ВИРУЛЕНТНОСТИ

Применение биопробы в целях обнаружения в исследуемом материале микроба туляремии прочно вошло в практику эпидемиологических и эпизоотологических обследований и экспериментальных работ. Обычно для биопроб используют белых мышей, обладающих, как известно, высокой восприимчивостью и инфекционной чувствительностью к туляремии.

Для получения у мышей смертельной инфекции достаточно введение ей под кожу всего одной-двух вирулентных туляремийных бактерий.

Казалось бы, столь высокая чувствительность мышей к туляремии исключает необходимость повторных и тем более многократных пассажей при выделении туляремийного микроба.

Говоря так, мы не имеем в виду те случаи, когда из-за неудач с посевом (загрязнение посторонней флорой) не удается выделить чистую культуру возбудителя из органов павшего от туляремии животного первого пассажа, вследствие чего приходится прибегать к повторным пассажам.

Тем не менее, отдельные авторы придерживаются иных взглядов и настаивают на применении для обнаружения туляремийных бактерий 3—4 и более пассажей, если животные (белые мыши) первых пассажей не пали от туляремии. Сторонники этой точки зрения считают, что при малом количестве в исследуемом материале туляремийных бактерий или при частичном ослаблении их вирулентности первые пассажи сопровождаются развитием у животных «немой» или «латентной» инфекции. В этих случаях мыши остаются внешне здоровыми, на вскрытии у них (при забое на 8—10-е сутки после заражения) заметных патологоанатомических изменений может не обнаружиться, посевы и бактериоскопия дают отрицательный результат и т. д. Предполагается, что после нескольких последовательных пассажей, усиливших вирулентность бактерий, инфекция из латентной переходит в острую — мышь очередного пассажа погибает с типичными для туляремии патологоанатомическими изменениями, в мазках из органов обнаруживается большое количество туляремийных бактерий и т. д., а выделенная культура не отличается от обычных вирулентных культур.

Отсутствие в литературе сколько-нибудь убедительных данных, подтверждающих целесообразность применения в работе с туляремийным микробом методики многократных пассажей (заимство-

ванной главным образом из противочумной, а также вирусологической практики), побудило нас заняться ее экспериментальной проверкой.

Опыты были поставлены с вирулентным штаммом № 9 *V. tularensis*, а также с тремя другими штаммами — 9к, 9к<sub>5</sub> и 9к<sub>25</sub>, обладавшими пониженной вирулентностью. Перечисленные штаммы получены из лаборатории туляремии ИЭМ АМН СССР.

Штамм 9 был выделен из органов обыкновенной полевки, павшей от туляремии во время зимней эпизоотии в скирдах. Для поддержания исходной вирулентности этот штамм непрерывно пассировали в лаборатории на белых мышах. Для работы была взята культура, свежесвыделенная от мыши очередного пассажа, павшей от туляремии.

Штаммы 9к, 9к<sub>5</sub> и 9к<sub>25</sub> были получены О. С. Емельяновой из вышеупомянутого вирулентного штамма 9 путем культивирования его на искусственных питательных средах.

Для сравнительного определения вирулентности упомянутых 4 штаммов мы поставили опыты на белых мышах и белых крысах. Заражение животных произвели подкожно двухсуточной культурой со свернутой желточной среды. Густоту исходной взвеси туляремийных бактерий мы определяли сравнением с бактериальным стандартом ЦГНКИ, содержащим в 1 мл 1 млрд микробных клеток, и далее делали нужные разведения. В дальнейших опытах мы прибегли к той же методике выращивания и стандартизации взвеси бактерий.

Белых мышей заразили по 5 и белых крыс по 3 на дозу (таблица 1).

Штамм 9 обусловил гибель от туляремии всех подопытных мышей при введении им доз 1 и 10 микробных клеток, от дозы 0,1 микробной клетки пали 4 мыши из 5. Белые крысы все пали от дозы 1 млрд., тогда как от дозы 100 млн. и 10 млн. пала лишь часть крыс, а от дозы 1 млн. микробных клеток — ни одна крыса не пала.

Следовательно, этот штамм по своей вирулентности вполне соответствовал «очаговому» или «эпидемическому» штаммам.

Штаммы 9к, 9к<sub>5</sub> и 9к<sub>25</sub> заметно отличались по своей вирулентности от штамма 9. Ни один из них не обусловил гибели белых крыс при введении последним доз в 100 млн. и 1 млрд. микробных клеток. Почти все мыши выжили от доз в 1 и 10 микробных клеток, часть мышей выжила от дозы в 100 микробных клеток при заражении штаммами 9к<sub>5</sub> и 9к<sub>25</sub> и даже от доз в 1000, 10 тысяч и 100 тысяч микробных клеток — при заражении этим последним штаммом.

Наиболее ослабленным следует признать штамм 9к<sub>25</sub>. Однако, его остаточная вирулентность для белых мышей была выше таковой вакцинного штамма Гайского. Как известно, вакцинный штамм при заражении равного количества мышей дозами в 1000, 10 тысяч, 100 тысяч и 1 млн. микробных клеток обуславливает суммарно гибель до 30% животных, тогда как штамм 9к<sub>25</sub> в дозах 1000, 10 тысяч и 100 тысяч микробных клеток обусловил гибель 10 мышей из 15, что составляет 66%.

Остальные два штамма — 9к и 9к<sub>5</sub> занимают по вирулентности промежуточное положение между вирулентным штаммом 9 и ослабленным штаммом 9к<sub>25</sub>.

Сравнительное определение вирулентности для белых мышей и белых крыс  
вирулентного штамма 9 и ослабленных штаммов 9к, 9к<sub>5</sub> и 9к<sub>25</sub>

Штаммы	Белые мыши										Белые крысы				
	Дозы заражения										клетках				
	0,1	1	10	100	1000	10000	100000	1 млн.	10 млн.	100 млн.	1 млрд.				
Вирулент- ный 9	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
	6	6	5	5	5	5	5	5	5	5	5	-	+	+	+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
	10	6	7	6	6	6	6	6	6	6	6	4	3	4	2
9к	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9к <sub>5</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9к <sub>25</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ПРИМЕЧАНИЕ. Знак плюс (+) означает, что животное пало от туляремии;

знак минус (-), что животное выжило.

Цифрами обозначены сроки гибели животного в днях.

Таким образом, для наших опытов мы имели штаммы туляремийных бактерий, вирулентность которых убывала, если расположить эти штаммы в такой последовательности: 9 — 9к — 9к<sub>5</sub> и 9к<sub>25</sub>.

По другим биологическим свойствам ослабленные штаммы не отличались сколько-нибудь заметно от вирулентного штамма. Эти штаммы на свернутой желточной среде росли вполне типично, они не росли на простых питательных средах, агглютинировались противотуляремийной сывороткой до титра или до половины титра последней, по морфологии представляли собой очень мелкую коккобактерию, по Граму обесцвечивались и т. д.

В опытах по выяснению эффективности методики многократных пассажей при выделении вирулентного штамма (№ 9) мы прибегали к введению исходным белым мышам той наименьшей дозы бактерий, от которой часть мышей выживает. При подкожном введении таковой является доза 0,1 микробной клетки по стандарту ЦГНКИ (т. е. фактически 1—2 туляремийные бактерии), а при пероральном введении — доза в 1000 микробных клеток. Каждой из этих доз мы заразили по 50 белых мышей.

При подкожном заражении взвесь в объеме 0,5 мл вводили мышам в заднюю ногу в области паха. При пероральном заражении взвесь в том же объеме вводили мышам через пищевод, применяя специальный зонд с оливой на конце.

Мы намеренно использовали два способа заражения, так как в случае применения дозы 0,1 микробной клетки может быть сделано возражение, что не всем мышам были введены бактерии, ввиду возможности неравномерного распределения единичных бактерий в разных порциях вводимой взвеси.

Применение (при оральном заражении) дозы в 1000 микробных клеток исключает полностью это возражение.

Из 50 белых мышей, которым под кожу была введена доза в 0,1 микробной клетки, выжили 27 мышей, остальные пали от типичной туляремии. Из 50 белых мышей, зараженных орально дозой в 1000 микробных клеток, выжили 22 мыши, остальные пали от типичной туляремии. В обоих опытах диагноз туляремии у павших мышей основывался на характерных для туляремии патологических изменениях органов, положительной бактериоскопии и выделении исходной культуры.

Выжившие в обоих опытах 49 белых мышей были забиты на 15-й день. В органах каких-либо заметных отклонений от норм обнаружено не было. Индивидуально от каждой забитой мыши был сделан пассаж органов (селезенки, лимфатических узлов) свежей мышам. На 10-й день мыши первого пассажа были забиты и их органы снова индивидуально пассированы свежим мышам. В дальнейшем число пассажей было доведено до 5, каждый раз мышам забивали на 10-й день. Всего на пассажи было израсходовано 245 мышей. Во всех случаях подопытные мыши до момента их забоя оставались внешне здоровыми. У забитых мышей внутренние органы не имели отклонений от нормы, а сделанные выборочно посева оставались стерильными. 49 белых мышей пятого пассажа были на 15-й день сняты с опыта без каких-либо признаков заболевания.

Таким образом, ни в одном случае применение методики многократных пассажей не выявило в анализах возбудителя туляремии.

Следует отметить, что на протяжении всего опыта, который продолжался около 2 месяцев, ни в животнике, где содержали пассажных мышей, ни в секционной, где их вскрывали, не производилось каких-либо параллельных работ с культурами туляремийных бактерий. Это позволило надежно исключить возможность случайного «припассирования» инфекции по ходу ведения пассажей.

Для проверки эффективности этой же методики многократных пассажей при выделении в той или иной мере ослабленных штаммов (9к, 9к<sub>5</sub> и 9к<sub>25</sub>) мы подвергли исследованию 25 мышей из общего числа 40 мышей, выживших при испытании вирулентности этих штаммов при заражении дозами в 1 микробную клетку и более (табл. 1). Мышей мы забили в следующие сроки: 10 мышей на 12-е сутки и 15 мышей на 15-е сутки от начала опыта. В числе забитых были 4 мыши, выжившие после заражения дозами в 1 и 10 микробных клеток штамма 9к, 10 мышей, выживших от доз в 1, 10, 1000 и 10 000 микробных клеток штамма 9к<sub>5</sub> и 11 мышей, выживших от доз в 1, 10, 100, 1000, 10 000, 100 000 микробных клеток штамма 9к<sub>25</sub>.

На вскрытии у большинства мышей резких патологоанатомических изменений в органах не было обнаружено, но у отдельных животных на месте введения взвеси отмечали инфильтрат, а селезенка была увеличенной.

Бактериоскопия мазков-отпечатков во всех случаях оказалась отрицательной.

В посевах на свернутую желточную среду в 7 случаях была получена чистая культура туляремийного микроба, но только от мышей, забитых на 12-е сутки (в это число входят 4 мыши, зараженные дозами в 1, 10, 100 и 10 000 микробных клеток штамма 9к<sub>5</sub> и 3 мыши зараженные дозами 100, 1000 и 10 000 микробных клеток штамма 9к<sub>25</sub>). Рост, как правило, был скудным и становился заметным на 3—5-й день. Посевы от мышей, забитых на 15-е сутки, остались стерильными. От каждой забитой мыши (в дальнейшем изложении мы их называем исходными) было сделано, как правило, пять последовательных пассажей на белых мышках. Выживших мышей первого пассажа забили на 10-й день, мышей второго пассажа — на 10—13-й день, мышей третьего, четвертого и пятого пассажей — на 11-й день. Если туляремийного микроба обнаруживали по ходу пассажей непрерывно, то число их иногда сокращали до 3—4. Всего на пассажи было израсходовано 117 белых мышей.

Пассировали селезенку и лимфатический узел, взятый со стороны введения материала. От забитых пассажных мышей делали посевы на свернутую желточную среду и микроскопировали мазки-отпечатки, окрашивая их по Романовскому. Павших мышей исследовали с применением той же методики.

От 18 исходных мышей, посевы из органов которых оказались стерильными, первый пассаж выявил туляремийных бактерий в 8 случаях, второй пассаж еще в 3 случаях и третий пассаж в 1 случае. Четвертый и пятый пассажи новых находок не добавили (табл. 2).

Всего, следовательно, ослабленные бактерии туляремии удалось обнаружить в пассажах от 12 исходных мышей из 18. От остальных 6 исходных мышей все пассажи оказались безуспешными, в том числе от 5 мышей число пассажей было доведено до пяти

Таблица 2

Результаты исследования мышей, забитых на 12—15-й день после заражения сублетальными дозами ослабленных штаммов *B. tularensis*

Штаммы	Дозы заражения мышей (в микробных клетках)	Всего забито мышей	Мыши забиты в сроки (в днях)	Количество мышей, у которых микроб туляремии выявлен:					Всего мышей, у которых микроб туляремии обнаружен	Всего мышей, у которых микроб туляремии обнаружен	
				прямым посевом	в пассажах						
					I	II	III	IV			V
9к	1,1,10,10	4	15	—	2	1	1	—	—	4	0
9к <sub>5</sub>	10,10,100,100 и 10 000	5	12	4	—	—	—	—	—	4	1
9к <sub>5</sub>	1,1,10,10,100	5	15	—	2	1	—	—	—	3	2
9к <sub>25</sub>	10,100,1000,1000,100 000	5	12	3	2	—	—	—	—	5	0
9к <sub>25</sub>	1,1,10,10,100,10000	6	15	—	2	1	—	—	—	3	3
Всего	1—100 000	25	12-15	7	8	3	1	—	—	19	6



и от 1 мыши, ввиду примешавшейся на первом пассаже посторонней инфекции, только до двух.

После пассажа, в котором результат исследования оказывался положительным, последующие пассажи, до пятого включительно, чаще также были положительными, реже культура терялась в пассажах. Неудачи в отдельных случаях зависели от того, что примешивалась какая-либо посторонняя инфекция, возбудитель которой заглушал ослабленных туляремийных бактерий.

То же нужно сказать и о пассажах от 7 исходных мышей, из органов которых культура была получена при посеве. Получив положительный результат, мы в ряде случаев не прекращали пассажей для того, чтобы выяснить, в какой мере несколько пассажей (до пяти включительно) могут повысить вирулентность наших штаммов.

В подавляющем большинстве случаев (75%) пассажные мыши не гибли, их забивали и *V. tularensis* обнаруживали посевом, тогда как бактериоскопия была отрицательной или сомнительной (1 балл).

На вскрытии у забитых мышей, от которых затем была выделена культура микроба туляремии, во многих случаях обнаруживались те или иные патологоанатомические изменения, характерные для этой инфекции, а именно: на месте заражения в паху плотный инфильтрат, увеличение лимфатических узлов и селезенки, гиперемия надпочечников, иногда умеренная гиперемия сосудов подкожной клетчатки и т. д. Однако эти изменения не были столь резкими, как у павших мышей. У немногих мышей были обнаружены лишь очень незначительные изменения органов, тем не менее культура от них также была выделена. Забитые мыши, от которых культура не была выделена, чаще не имели заметных патологоанатомических изменений органов.

В посевах (из селезенки) от забитых мышей рост туляремийных бактерий чаще был скудным, в виде рассеянных или единичных колоний, обнаруживаемых с 3—5-го дня инкубации в термостате. При известном навыке колонии по их внешнему виду распознавались без труда, особенно при рассмотрении в лупу, они были мелкие, выпуклые, круглые, блестящие. В мазках из таких колоний были типичные по морфологии туляремийные бактерии.

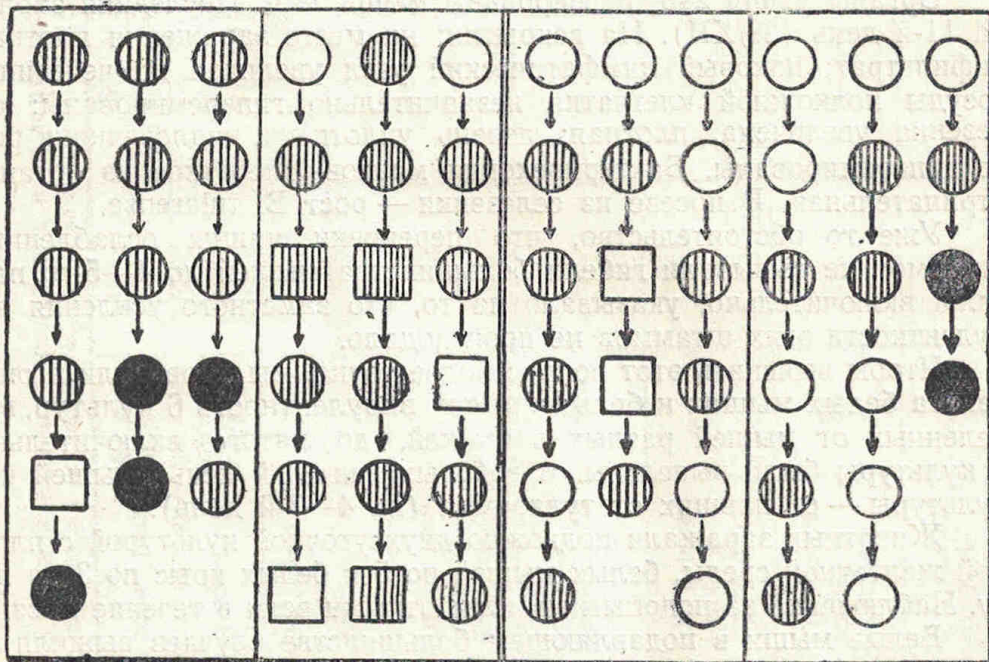
В случаях острого течения туляремии мыши погибали на 5—8-й день, реже позднее (иногда на 11-е сутки). На вскрытии у таких мышей обнаруживалась довольно типичная для туляремии патологоанатомическая картина, а именно: на месте заражения в паху — плотный, иногда довольно значительный по размерам инфильтрат, увеличение лимфатических узлов, особенно со стороны заражения, увеличение и уплотнение селезенки и печени, изменение цвета этих органов, гиперемия надпочечников, резкая гиперемия сосудов подкожной клетчатки и т. д. У большинства павших мышей бактерии в отпечатках из селезенки обнаруживались в значительном количестве (на III—IV балла), тогда как в крови — нерегулярно и в умеренном количестве (на I—II, редко на III балла). При заражении вирулентным штаммом № 9 у павших мышей обсеменение крови было гораздо более интенсивным (на IV балла). В посевах из селезенки, если они не были загрязнены посторонними микробами,

рост был обильным и отмечался уже через 1—2 суток инкубации в термостате.

Частоту выделений в посевах ослабленных бактерий туляремии от биопроб демонстрируют следующие данные.

Из общего числа 89 белых мышей, использованных нами для пассажей (исходные 25 мышей, а также пассажные мыши шести безрезультатных линий пассажей сюда не включены), микроб туляремии был выявлен в посевах из органов 55 мышей (60%), в том числе от 41 забитой и 14 павших. В посевах из органов павших мышей рост чистой культуры отмечен в 9 случаях и смешанной культуры (чаще всего грамотрицательной палочкой из кишечной группы или со стрептококком) в 5 случаях; последнее указывало на гибель мышей от смешанной инфекции. У 23 забитых и у 11 павших мышей, всего у 34 (40%), в посевах микроб туляремии не был обнаружен, причем от забитых мышей посев был стерильным, а от павших — посев дал обильный рост посторонней флоры. В ряде случаев возбудители посторонних инфекций не только затрудняли высеv туляремийных бактерий, но и приводили к тому, что в последующих пассажах ослабленная туляремийная инфекция терялась.

В 12 линиях пассажей бактерии пассировались, не вызывая гибели мышей, до пятого пассажа включительно, в 7 линиях — нерегулярно мыши гибли (см. рисунок, на котором эти данные представлены выборочно).



Приведем протокольные данные одной из линий пассажей.

Белой мыши № 245 I/XI 1952 г. введены подкожно 10 тысяч микробных клеток двухсуточной культуры штамма 9к<sub>5</sub>. Мышь забита 13/XI. На вскрытии отмечено значительное увеличение селезенки, остальные органы без заметных изменений. Бактериоскопия мазков-отпечатков из селезенки и крови отрицательная, в посеve из селезенки рост туляремийных бактерий.

Органы забитой мыши пассированы белой мыши № 245<sub>1</sub>. Последняя забита 23/XI, т. е. на 10-й день. На вскрытии: сосуды подкожной клетчатки слегка гиперемированы, на месте введения инфильтрат; лимфатические узлы паховые и подмышечные увеличены до чечевицы, но не гиперемированы; селезенка вишневая, сочная, надпочечники увеличены, гиперемированы, кишечник и легкие без видимых изменений. Бактериоскопия мазков-отпечатков из органов отрицательная. Из селезенки в посеве рост единичных колоний *V. tularensis*.

Органы мыши 245<sub>1</sub> пассированы мыши 245<sub>2</sub>. Последняя забита на 13-й день (6/XII). На вскрытии отмечено увеличение селезенки, в других органах видимых изменений нет. При бактериоскопии незначительное количество туляремийных бактерий (на 1 балл) обнаружено в ткани на месте введения и в селезенке. В посеве из селезенки — рост разрозненных колоний *V. tularensis*.

Органы мыши 245<sub>2</sub> пассированы мыши 245<sub>3</sub>. Последняя пала на 11-й день (17/XII). На вскрытии: на месте заражения плотный инфильтрат, гиперемия сосудов подкожной клетчатки; надпочечники гиперемированы, увеличены; селезенка вишневая, мало уплотнена, кишечник частично растянут. При бактериоскопии микробы туляремии обнаружены в довольно большом количестве (на III балла) в ткани на месте заражения, в лимфатическом узле, селезенке и печени и не обнаружены в крови. В посеве из селезенки обильный рост *V. tularensis*.

Органы мыши 245<sub>3</sub> пассированы мыши 245<sub>4</sub>. Последняя забита на 11-й день (28/XII). На вскрытии: на месте заражения плотный инфильтрат; паховый лимфатический узел увеличен до чечевицы; сосуды подкожной клетчатки незначительно гиперемированы; селезенка увеличена, плотная; печень уплотнена, надпочечники резко гиперемированы. Бактериоскопия мазков-отпечатков из органов отрицательная. В посеве из селезенки — рост *V. tularensis*.

Уже то обстоятельство, что перевивки наших ослабленных штаммов не вызывали гибели большинства мышей до 4—5-го пассажа включительно, указывало на то, что заметного усиления вирулентности этих штаммов не происходило.

Чтобы выяснить этот вопрос более точно, мы проверили в опытах на белых мышах и белых крысах вирулентность 6 культур, выделенных от мышей разных пассажей, до пятого включительно. 3 культуры были выделены от забитых (на 11-й день) мышей и 3 культуры — от павших от туляремии (на 4—7-й день).

Животных заражали подкожно двухсуточной культурой с плотной желточкой среды, белых мышей по 5 и белых крыс по 3 на дозу. Наблюдения за подопытными животными вели в течение месяца.

Белые мыши в подавляющем большинстве случаев выжили от доз в 1 и 10 микробных клеток, меньшая выживаемость отмечена от дозы в 100 микробных клеток и далее по мере увеличения дозы число павших животных возрастало; белые крысы все выжили от доз 100 млн. и 1 млрд. микробных клеток (табл. 3).

Следовательно, все культуры оказались ослабленными, ни в одном случае 2—5-го пассажей через органы белых мышей не повысили вирулентность этих культур до уровня «эпидемических» штаммов.

Таблица 3

Сравнительное определение вирулентности для белых мышей и белых крыс ослабленных штаммов *B. tularensis* после их пассажей через организм белых мышей

Исходный штамм	Доза (м. кл) заражения исходной мышью	Условия выделения культуры в пассажах	№ выделенной пассажирской культуры	Белые мыши										Белые крысы				
				Дозы заражения в микробных клетках										100 млн.	1 млрд.			
				1	10	100	1000	10 000										
9к	1	От забитой мыши V пассажира	198	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	10	От павшей мыши III пассажира	202	-	-	-	+ 6	+ 7	+ 8	+ 6	+ 7	+ 8	-	-	-	-	-	-
9к <sub>5</sub>	10	От забитой мыши V пассажира	258	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	100	От павшей мыши II пассажира	234	-	+ 9	+ 11	+ 8	+ 9	+ 10	+ 8	+ 9	+ 10	+ 8	+ 9	+ 10	-	-	-
9к <sub>25</sub>	1000	От забитой мыши IV пассажира	267	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10 000	От павшей мыши II пассажира	273	-	-	-	+ 7	+ 9	+ 11	+ 6	+ 7	+ 9	+ 7	+ 9	+ 11	-	-	-

Примечание: обозначения те же, что и в таблице 1.

Культуры, выделенные от павших пассажных мышей, мало чем отличались от исходных штаммов, лишь культура № 234, выделенная от павшей мыши второго пассажира, стала как будто слегка вирулентнее для мышей, нежели исходный штамм 9к<sub>5</sub>; от доз в 10 и 100 микробных клеток этой культуры пало от туляремии большинство мышей, тогда как от тех же доз исходного штамма почти все мыши выжили.

Но культуры, выделенные от забитых пассажных мышей, даже в тех случаях, когда число пассажей было доведено до 5, оказались менее вирулентными, чем исходные штаммы. Например, от доз 1000 и 10.000 микробных клеток этих культур все мыши или их подавляющее большинство выжили, тогда как от тех же доз исходных штаммов, особенно 9к и 9к<sub>5</sub>, все животные или их подавляющее большинство пали от туляремии.

Вряд ли можно думать, что в этих случаях в процессе пассажей через организм мышей произошло ослабление штаммов. Скорее это могло зависеть от неоднородности штаммов, с которыми мы работали: в микробной популяции наряду с более вирулентными были и менее вирулентные клетки, причем, по-видимому, преобладали эти последние.

На это косвенно указывает то, что более вирулентные культуры выделены в линиях пассажей от тех исходных мышей, которые были заражены большей дозой исходного штамма, тогда как менее вирулентные культуры выделены в линиях пассажей от мышей, зараженных меньшей дозой того же штамма. С увеличением дозы, очевидно, повышались шансы попадания более вирулентных клеток в порцию взвеси, вводимую исходной мышью.

Неоднородность популяции туляремийных бактерий на промежуточных этапах аттенуации культуры, наличие в ослабленной культуре клеток с различными биологическими свойствами и с расшатанной наследственностью доказаны работами О. С. Емельяновой (1953).

По другим биологическим свойствам, в том числе агглютинабельности специфической сывороткой, изученные пассажные культуры не отличались от исходных штаммов.

### Обсуждение результатов

Наши опыты со всей очевидностью показали безуспешность метода многократных пассажей на белых мышах при работе с вирулентным «эпидемическим» штаммом в том случае, если животное первого пассажира не погибло от туляремии до 15-го дня. И наоборот, этот метод при тех же условиях оказался вполне эффективным при работе с ослабленными штаммами, промежуточными между вирулентным и вакцинным.

Для обнаружения в исследуемом материале ослабленных бактерий вовсе не требуется множества пассажей, число их может быть ограничено, как правило, двумя. Культуру сравнительно легко удастся получить при высеве из селезенки мышей первого или второго пассажира, забитых на 10-й день от начала опыта. Гибель пассажных мышей в случаях выделения ослабленных культур совершенно не обязательна. Несколько пассажей (до пяти) не превращают ослабленную культуру во вполне вирулентный «эпидемиче-

ский» штамм, вызывающий постоянно гибель пассажных мышей. Для такого превращения, очевидно, нужно сделать гораздо большее число пассажей.

В свете полученных данных следует отнестись критически к отдельным опубликованным работам, выполненным с применением «многопассажной» методики. Мы имеем в виду те случаи «выделения» вирулентной культуры, когда мыши в первых пассажах не гибли, а бактериологическое исследование их органов было безуспешным.

При «многопассажной» методике, если работа ведется недостаточно тщательно, всегда имеется опасность «припассирования» туляремийных бактерий в анализ, первоначально свободный от них, из параллельно ведущихся в лаборатории туляремийных анализов. Такие случаи в практике известны.

Мы полагаем, что при обычной лабораторной работе с вполне вирулентными штаммами туляремийного микроба, для его обнаружения в том или ином экспериментальном материале исследователь может органичиваться одним пассажем на белой мыши, оставляя ее под наблюдением 20 дней. Далее следует ее забить и из органов сделать контрольный высеv. При работе с менее вирулентными штаммами число пассажей может быть доведено до двух, обязательно сопровождаясь тщательными посевами из органов забиваемой или павшей мыши.

В практике эпидемиологических и эпизоотологических обследований при исследовании подозрительного на туляремию материала не следует делать на мышах более двух пассажей,<sup>1</sup> если последние оказались безуспешными, т. е. мыши первого и второго пассажей не пали, а посеvы остались стерильными. Мышей первого пассажа (первичная биопроба) следует забивать и исследовать на 10-й день, а второго пассажа — на 15-й день.

В практике таких обследований следует считаться с возможностью гибели мыши второго пассажа от острой туляремии, с выделением вполне вирулентного штамма, при отсутствии гибели мыши первого пассажа до 10-го дня. Это может наблюдаться в тех случаях, когда у мыши первого пассажа развитие инфекции затянулось более, чем на 10 дней. Известно, что при подкожном введении единичных бактерий, особенно в кусочках ткани, сроки гибели белой мыши в редких случаях затягиваются до 15 и даже до 18 дней.

Излишнее число пассажей влечет за собой непроизводительную трату животных, а при недостаточно тщательной работе результаты могут оказаться просто недостоверными из-за случаев «припассирования».

При использовании для биологических проб морских свинок следует иметь в виду, что у них возможны случаи переболевания туляремией при заражении малыми дозами (1 микробная клетка) вирулентных штаммов. Поэтому применение морских свинок для многократных пассажей может дать иные результаты, чем пассирование на белых мышах.

<sup>1</sup> Т. е. надо ограничиться первичной биопробой и одним пассажем от нее

## ВЫВОДЫ

1. Метод многократных пассажей на белых мышях при работе с вирулентным «эпидемическим» штаммом микроба туляремии себя не оправдал. Если животное первого пассажа (первичная биопроба) выживало до 15-го дня, то дальнейшие пассажи от него оказывались бесполезными.

2. Этот же метод оказался вполне эффективным при работе с ослабленными в той или иной мере штаммами микроба туляремии. Сочетая пассажи с тщательными высевами из органов мышей удавалось выделить культуру, как правило, уже в 1—2-м пассажах; гибель животных в таких случаях не была обязательной.

3. Ослабленные штаммы микроба туляремии, пассированные несколько раз (до пяти) через организм белой мыши, не повысили своей вирулентности до уровня вирулентности «эпидемического» штамма.

4. При обследовательской работе с целью выявления очагов инфекции биологическое исследование подозрительного на туляремию материала должно включать не более двух пассажей на белых мышях, причем выжившее животное первого пассажа (первичная биопроба) надлежит забить на 10-е, а второго пассажи — на 15-е сутки; в обоих случаях должен быть произведен тщательный посев из органов забиваемого животного.

5. При экспериментальной работе с вирулентным штаммом биологическое исследование материала может быть ограничено одним пассажем на белой мыши и наблюдением за ней до 20 дней.

6. При экспериментальной работе с ослабленными штаммами биологическое исследование материала должно включать, как правило, два пассажа, причем выживших животных надлежит забивать на 10-й день и из органов производить тщательные посевы

В. Л. Титова, Г. А. Яромюк,  
Ф. С. Азаргинова и А. Е. Выборова

### К ВОПРОСУ О ПОЛУЧЕНИИ УСТОЙЧИВОЙ К ЛИЗИСУ ХОЛЕРНОЙ МОНОВАКЦИНЫ

Известно, что старение водных суспензий микробных культур сопровождается значительным лизисом микробных клеток. Лизис наблюдается также и тогда, когда микробные клетки суспензированы в растворах солей физиологической концентрации.

Определенная степень лизиса бактериальных вакцин, представляющих собой суспензии микробных клеток в физиологическом растворе, при длительном хранении является нормальной. Однако иногда степень лизиса бактериальных клеток настолько значительно превышает эти нормальные показатели, что препятствует выпуску вакцины.

В практике производства Иркутского противочумного института в 1952 г. вследствие лизиса холерной моновакцины было забраковано 27% нативной взвеси различной концентрации и 40% взвеси 4-миллиардной концентрации.

В 1953 г. также забраковано 77% нативной взвеси вследствие снижения стандарта (табл. 1).

Таблица 1

Лизис холерной вакцины

Год	Штаммы, вошедшие в производство	Нативная эмульсия в литрах		Вакцина в литрах	
		всего изготовлено	брак по лизису в %	всего изготовлено	брак по лизису в %
1952	№№ 11,16,140,143, 1488, полученные в 1950 г.	490	27	1257	40
1953	№№ 11,16,140,143, 1488, полученные в 1950 г.	663	77	—	—
	№№ 1в,140,267 и 1488, полученные в 1953 г.	101	—	331	—
1954	№№ 1в,140,267 и 1488, полученные в 1953 г.	137	—	496	14,7
1955	№№ 1в, 140,267 и 1488, полученные в 1953 г.	343	—	1296	—



Лизис препаратов имел место и при высокой концентрации микробных тел в полуфабрикате и в конечной 4-миллиардной концентрации, приготовленной для выпуска вакцины. Лизировались как гретая, так и формолвакцина. Обычно лизис отмечался уже спустя 10 дней после изготовления препарата. Явление быстрого распада убитых микробных клеток, суспензированных в физиологическом растворе, до настоящего времени не нашло объяснения. Можно допустить, что главная причина лизиса состоит в осмотической неустойчивости микробной клетки. Ввиду того значения, которое имеет это обстоятельство для выпуска вакцины, мы вынуждены были выяснить зависимость лизиса от условий работы с исходными культурами и способа приготовления вакцин.

В течение 1952 и 1953 гг. для изготовления холерной моновакцины пользовались штаммами № 11, 16, 143 и 1488, полученными в 1950 г. из ЦГНКИ. До использования в производственном процессе эти культуры сохранялись в запаянных пробирках на мясопептонном агаре  $pH = 7,6$  и пересевались еженедельно.

В целях борьбы с лизисом сотрудниками отдела был предпринят целый ряд мер. В январе 1953 года вышеуказанные штаммы были законсервированы высушиванием, а с февраля 1953 г. в качестве питательной среды начали применять мясопептонный агар и бульон с лизатом № 2,  $pH = 7,8$ .

Использование высушенных штаммов, так же как изменение питательной среды, не уменьшило лизиса вакцины. В связи с этим в 1953 г. были получены новые штаммы холерного вибриона.

При работе с новыми штаммами удалось получить некоторое количество стабильной эмульсии. Однако, последующая работа по приготовлению вакцины из этих новых штаммов опять сопровождалась лизисом препарата.

Так как различные варианты условий содержания штаммов не дали желательного результата, мы, исходя из представления о том, что осмотическая стойкость убитых микробных клеток зависит от исходных качеств живой микробной клетки, решили провести опыты по селекционированию именно в этом направлении.

Известно, что приспособительная изменчивость одноклеточных затрагивает все физиологические стороны жизнедеятельности микробной клетки и имеет широкие пределы. Так, культивируя микроорганизмы в условиях постепенного повышения концентрации солей в среде, можно получить размножение микробов при такой концентрации, которая окажется губительной для исходной культуры.

Учитывая это, мы решили производить отбор уцелевших микробных клеток в лизированных суспензиях. Для этого суспензии микробных тел исследуемых штаммов в физиологическом растворе  $NaCl$ , сохранялись в течение 5 суток при температуре рефрижератора от  $+5$  до  $+6^\circ$ . За это время отмечался лизис. Из этих лизированных культур производили рассев на плотную среду и отбирали 10 колоний S — формы. Колонии, стойко сохранявшие S — форму, размножали на твердой питательной среде для последующего приготовления суспензии, которую вновь помещали в рефрижератор на 5 суток. После этого производили новый рассев на плотную питательную среду и вновь отбирали колонии S — формы. Многократный отбор, проведенный по этой схеме, в конце концов

дал такие культуры, которые будучи суспензированы в физиологическом растворе и инактивированы формалином не давали лизиса. Эти генерации использовались для производства. В 1955 г. было изготовлено восемь серий вакцины, что составило 1000 литров. Как в нативных эмульсиях, так и в разведенной вакцине лизиса не наблюдалось.

В заключение опыта была изучена иммуногенность резистентных к спонтанному лизису культур. Результат проверки показал, что эти свойства не отличаются от исходных (табл. 2).

Т а б л и ц а 2

**Влияние селекционирования штаммов на их иммуногенные свойства**

№ штамма	Иммуногенность штаммов			
	до селекционирования		после селекционирования	
	дата проверки иммуногенности	выживаемость иммунизированных морских свинок в %	дата проверки иммуногенности	выживаемость иммунизированных морских свинок в %
1в	март 1954 г.	50	январь 1955 г.	83
11	июнь 1953 г.	66	ноябрь 1954 г.	100
140	март 1954 г.	80	январь 1955 г.	88
143	июнь 1953 г.	83	октябрь 1954 г.	80
267	март 1954 г.	83	январь 1955 г.	88
1488а	Иммуногенность проверена только в вакцине		январь 1955 г.	74

Сравнение результатов испытания реактивности холерной вакцины выпуска 1954 и 1955 гг. показало, что проведенная со штаммами работа не отразилась на их реактогенных свойствах.

Отсутствие лизиса после проведенной работы со штаммами позволяет считать правильным наше предположение о том, что наблюдавшийся ранее лизис взвесей убитых микробных культур связан с осмотической стойкостью живой микробной клетки.

**ВЫВОДЫ**

1. Используя принцип приспособительной изменчивости, удается получить культуры холерного вибриона, отличающиеся стабильностью в отношении лизиса при длительном хранении в виде инактивированной суспензии в физиологическом растворе NaCl.

2. Вакцины, приготовленные из таких культур, не давали снижения исходной концентрации микробных клеток в течение 10 месяцев.

Э. И. Клец и Р. С. Колесник

## К ВОПРОСУ ОБ ИССЛЕДОВАНИИ ВЕГЕТАТИВНЫХ ГАНГЛИЕВ У МОРСКИХ СВИНОК ПРИ ЧУМЕ

За последние годы уделяется все большее и большее внимание изучению патоморфологии нервной системы при различных инфекционных заболеваниях. С целью выяснения роли нервной системы в патогенезе острых и хронических инфекций предпринято и выполнено большое количество работ, в результате которых советские нейроморфологи обогатили наши знания по нейрогистологии центральной и периферической нервной системы.

Значительный интерес представляют собой данные, полученные при исследовании вегетативных нервных ганглиев. Наибольшее количество материала получено со вскрытий людей, погибших от той или иной инфекции. Между тем ряд вопросов патоморфологии и особенно гистопатологии ганглиев для своего решения не может обойтись без привлечения экспериментального материала.

При многих инфекциях наиболее удобным животным для экспериментирования является морская свинка как по простоте содержания и обращения с ней, так и, главное, по характеру реактивности и сходности патоморфологических изменений во внутренних органах с изменениями, наблюдаемыми при этих же инфекциях у человека. По патологической гистологии вегетативных ганглиев существует сравнительно малое количество экспериментальных работ. Еще меньшее количество работ имеется по гистопатологии вегетативных ганглиев при инфекционных заболеваниях, а работ, которые касались бы вопроса патогистологических изменений вегетативных ганглиев при экспериментальной чуме, в известной нам литературе нет. Поставив перед собой общую задачу проследить патогистологические изменения в ганглиях при экспериментальной чуме у морской свинки, для сопоставления этих изменений с патогистологической картиной во внутренних органах, мы вынуждены были в первую очередь разработать методику отыскания и иссечения нервных ганглиев (симпатических и парасимпатических) у морской свинки, поскольку в доступной нам литературе этот вопрос не освещается.

Процесс отыскания вегетативных узлов (шейного, пучкового и грудного) оказался довольно трудным.

Вегетативные ганглии у лабораторных животных (морская свинка, белая крыса), имея чрезвычайно небольшую величину, требуют для своего обнаружения большой тщательности и значительного навыка. При этом весьма целесообразно иметь представ-

ление относительно топографии этих образований у человека — поскольку человеческий и животный организмы построены по общему плану. Само собой разумеется, что из всех вегетативных ганглиев сравнительно легче могут быть обнаружены те из них, которые больше по величине: таковыми являются верхний шейный, нижний шейный или грудной и пучковый.

Доступ к этим узлам осуществляется посредством широкого срединного разреза шеи и туловища (рис. 1) с обнажением шейного сосудисто-нервного пучка.<sup>1</sup>

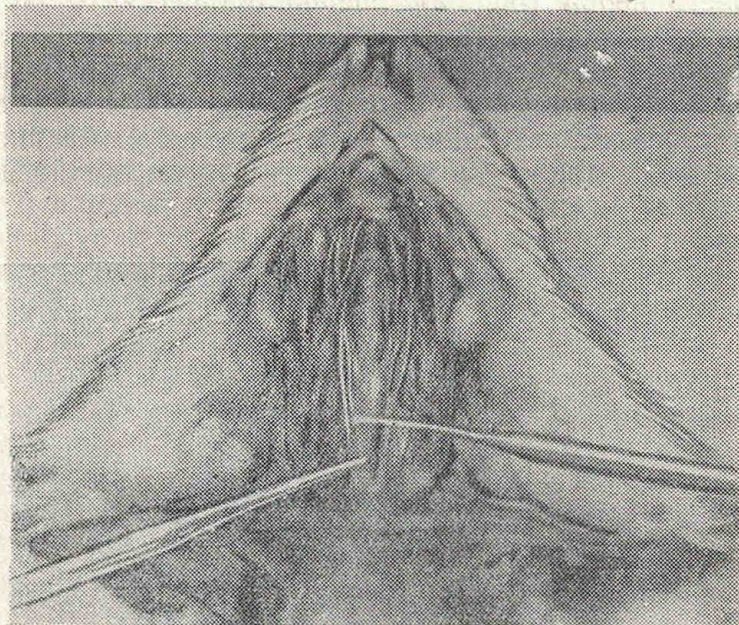


Рис. 1. Обнаженный шейный сосудисто-нервный пучок у морской свинки.

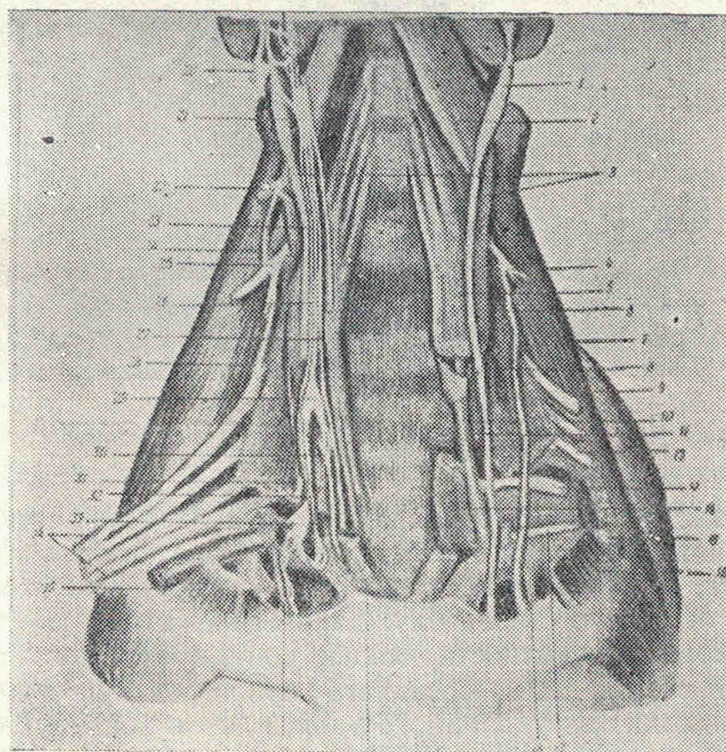
При поисках верхнего шейного узла (*ganglion cerv. superius*) лучшим ориентиром служит отходящий от него книзу верхний сердечный нерв, который в виде тончайшего серовато-розового волокна (в отличие от белого ствола блуждающего нерва) располагается на передне-боковой поверхности общей сонной артерии параллельно последней в составе всего сосудисто-нервного пучка. Учитывая, что этот нерв выходит из указанного узла, идем в восходящем направлении и находим узел в рыхлой клетчатке небольшого пространства между наружной и внутренней сонными артериями.<sup>2</sup> Следует отметить, что для удобства поисков целесообразно предварительно убрать подъязычный нерв, который пересекает указанное пространство в направлении сверху вниз и сзади наперед, прикрывая, таким образом, место расположения ганглия. Последний представляется в форме веретенообразного тельца (величина около  $1,5 \times 1,5$  мм), от которого отходят немногочисленные нервные стволы.

<sup>1</sup> Убитое животное должно быть прочно фиксировано на препаровальной доске за лапки и верхние резцы.

<sup>2</sup> Нередко манипуляции, связанные с выделением этого нерва вызывают у только что убитого хлороформом животного ритмичные сокращения прекратившего было свою работу сердца.

Нижний шейный узел (*ganglion cerv. inferius*) у одних свинок обнаруживается относительно легко, в то время как у других его не удается найти даже при весьма тщательных поисках. В случаях обнаружения этого узла он представляется сравнительно крупным и располагается у самого позвоночника на границе шеи с грудной клеткой. Сказанное дает основание полагать, что этот узел легко обнаруживается лишь в тех случаях, когда он соединен с верхним грудным узлом подобно тому, как это наблюдается у человека.

Сравнительно нетрудно выделить пучковый узел (*ganglion podosum*), если помнить, что он представляет собой утолщение блуждающего нерва (рис. 2), располагающееся тотчас по выходе последнего из черепа и дающее целый ряд ветвей, веерообразно расходящихся в ниже-медиальном направлении. Упомянутая локализация пучкового узла в большинстве случаев заставляет нас брать его до известной степени наугад путем отрезания блуждающего нерва как можно ближе к черепу, — по крайней мере так дело обстоит у морских свинок.



1—ganglion nodosum; 2—m. longus capitis; 3—nn. vagi; 4—CIV; 5—m. longus colli; 6—n. phrenicus; 7—m. scalenus medius; 8—m. scalenus anterior; 9—CV; 10—CVI—CVI; 11—a. vertebralis; 12—CVII; 13—CVIII; 14—m. longus colli; 15—a. subclavia; 16—m. scalenus anterior; 17—ThI; 18—a. mammaria interna; 19—plexus caroticus internus; 20—n. accessorius; 21—ganglion cervicale superius; 22—n. cervicalis III; 23—n. cardiacus superior; 24—ramus anastomoticus (n. CIII et n. CIV); 25—n. cervicalis VI; 25—n. cervicalis IV; 26—truncus sympathicus; 27—n. cardiacus superior; 28—ramus anastomoticus; 29—ganglion cervicale medium; 30—n. cardiacus medius; 31—v. vertebralis; 32—ansa subclavia (Viesensii); 33—ganglion cervicale inferius; 34—plexus brachialis; 35—a. subclavia; 36—a. mammaria interna; 37—a. anonyma

Рис. 2. Шейный отдел симпатической вегетативной нервной системы.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Рисунок заимствован из монографии Ю. М. Жаботинского. *Нормальная и патологическая морфология вегетативных ганглиев*. Москва, 1953.

Кролики в этом отношении составляют исключение, так как у них этот узел довольно хорошо заметен в месте его расположения. У крыс, наоборот, нерв приходится отрезать (выстригать ножницами) вместе с участком черепной кости, поскольку утолщение нерва у этих животных располагается лишь на внутренней поверхности черепа. Неизвестно, однако, действительно ли это утолщение представляет собой пучковый узел как таковой, или же оно является общим узлом, объединяющим в себе пучковый и яремный узлы.

После того, как была разработана методика отыскания вегетативных ганглиев на серии здоровых морских свинок, нами было предпринято исследование ганглиев у свинок, зараженных чумой.

Исследованию было подвергнуто три группы морских свинок. В каждой группе животные были заражены подкожно вирулентным штаммом возбудителя чумы (№ 92) в дозе 1000 микробов (100 смертельных доз).

В одной группе (4 морские свинки) животные в момент заражения получили инъекцию 1 мл противочумной сыворотки подкожно, в бедро со стороны, противоположной месту введения микробов.

Другая группа (6 морских свинок) получила перед заражением под кожу снотворное (люминал в дозе 0,05).<sup>1</sup> Пробуждение животных наблюдалось через 2—3 часа после заражения.

Третья группа (2 морские свинки), которой была введена только культура чумного микроба, служила контролем.

Из контрольной группы одна свинка была захлороформирована и вскрыта на 4-й день после заражения, другая погибла на 8-е сутки.

В группе морских свинок, получивших инъекцию противочумной сыворотки, одна свинка погибла на 8-е сутки, а три свинки были захлороформированы последовательно на 4, 5 и 6-е сутки и вскрыты.

В группе свинок, подвергнутых в момент заражения наркозу, одно животное погибло на 4-е сутки, другое на 10-е сутки, а 4 из них были захлороформированы последовательно на 4, 5, 6 и 7-е сутки и вскрыты.

Все животные, как погибшие, так и убитые, были подвергнуты бактериологическому исследованию; у всех проведено общее патологоанатомическое исследование и взяты для патогистологического исследования вегетативные ганглии (верхний шейный узел, пучковый и в части случаев грудной).

При бактериологическом исследовании всех вскрытых морских свинок в мазках-отпечатках из органов обнаружены в большом количестве биполяры; кроме того, из внутренних органов, лимфатических узлов, а также из места введения культуры выделен возбудитель чумы. Изменений в морфологических и биохимических свойствах выделенных культур в сравнении с исходными не отмечалось. Вирулентность выделенных штаммов также сколько-нибудь заметно не изменилась.

У всех животных, как контрольных, так и подвергнутых предварительному наркозу или предварительной иммунизации специфич-

<sup>1</sup> Заражение было произведено после того, как у животных наступал глубокий наркотический сон.

ческой сывороткой, при вскрытии установлена характерная для бубонной чумы патологоанатомическая картина: образование резко выраженного геморрагически-некротического воспалительного очага в мягких тканях, куда вводилась культура, с заметным увеличением и иногда некрозом регионарного лимфатического узла, с увеличением и некротическими очажками в селезенке, с пневмоническими фокусами и некротическими очажками в легких, с резко выраженной дистрофией печени и других паренхиматозных органов. Степень подобных изменений явным образом нарастала в зависимости от срока с момента заражения животного; что же касается разницы в патологоанатомических изменениях между вышеуказанными тремя группами животных, то таковой отметить не удалось.<sup>1</sup>

Имея в виду необходимость в первую очередь выяснить общую гистологическую картину в отдельных вегетативных ганглиях у морской свинки, мы ограничились в нашей работе общепринятой в гистологической практике методикой окраски срезов гематоксилин-эозином, гематоксилин—пикрофуксином, а также тионином, которые хотя и не дают возможности выявить тонкую структуру ганглиозных клеток, но в общем позволяют наблюдать воспалительные и дистрофические изменения в ганглии и окружающих его тканях.

При гистологическом исследовании вегетативных ганглиев во всех случаях отмечается дистрофия ганглиозных элементов, выражающаяся в том, что последние увеличены в объеме, нередко имеют расплывчатые контуры, протоплазма их лишена свойственной ей зернистости и имеет довольно однородную структуру и тусклый вид; часто в протоплазме содержатся вакуоли; клеточные ядра также бывают пронизаны вакуолями; кроме того, наблюдались случаи, когда ядро производит впечатление происходящего в нем кариолиза; некоторые ганглиозные клетки, наоборот, несколько уменьшены в объеме, имеют пикнотичное ядро; в межклеточной ткани отмечается отек и изменение сателлитов: в одних случаях набухание, в других — своеобразный пикноз.

Указанные изменения, будучи в общем одинаковыми в разных ганглиях одного и того же животного, по степени своей выраженности обнаруживают известную зависимость от сроков с момента заражения. У животных, убитых через 5 суток, они превосходят (правда не всегда) таковые у животных, убитых через 4 суток, а у животных, павших от самой болезни, эти изменения достигают наивысшей степени.

Так, например, у свинок, наркотизированных во время заражения, через 4 суток после введения культуры имеет место лишь гиперемия и едва заметное увеличение объема ганглиозных клеток. Через 5 суток после заражения кроме гиперемии в подобном же образом измененных ганглиозных клетках встречаются вакуоли, причем обращает на себя внимание пикнотичный вид сателлитов; наконец, в случаях гибели животных ко всему этому присоединяется тусклый вид протоплазмы и наблюдающаяся в некоторых клетках расплывчатость их очертаний.

<sup>1</sup> Здесь следует однако учитывать малое количество животных на том или ином сроке вскрытия и довольно отдаленный с момента заражения животных срок начала наблюдения (4-е сутки).

У свинок, иммунизированных в момент заражения сывороткой, через 4 суток после заражения ганглии гиперемированы, сателлиты имеют набухший вид, в однородной и тусклой протоплазме ганглиозных клеток встречаются едва заметные мелковакуольные просветления; через 5 суток после заражения сателлиты кажутся пикнотичными, ганглиозные клетки увеличены в объеме, их однородная и тусклая протоплазма содержит, кроме мелких просветлений, вполне отчетливые крупные вакуоли; наконец, у павших свинок ганглиозные клетки значительно увеличены в объеме, большей частью лишены отчетливых очертаний, бледны и еще более вакуолисты.

У контрольных свинок через 4 суток после заражения ткань ганглиев гиперемирована, ганглиозные клетки увеличены в объеме их протоплазма однородна, тусклая, содержит вакуоли, нередко вакуолями пронизано и клеточное ядро, иногда ядро находится в состоянии лизиса; сателлиты представляются пикнотичными. У павших свинок сосуды также полнокровны, межуточная ткань заметно отечна, ганглиозные клетки — одни уменьшены, с однородной тусклой протоплазмой и пикнотичным ядром, другие увеличены, бледны и лишены четких очертаний, протоплазма их ячеиста, ядро с признаками кариолиза; сателлиты пикнотичны.

Таким образом, изменения в ганглиях у подготовленных животных уступают таковым у неподготовленных, причем у свинок, подвергнутых при заражении наркозу, они слабее, чем у свинок, которым вводилась сыворотка. Так, если у неподготовленных свинок на 4-й день после заражения изменения в ганглиозных клетках доходят до вакуольного перерождения протоплазмы и ядра, а иногда даже до явлений кариолиза, то у свинок, иммунизированных сывороткой, ганглиозные элементы на этом сроке оказываются набухшими, тусклыми и содержат в протоплазме мелкоячеистые просветления, а у животных, зараженных в состоянии наркотического сна, со стороны этих же элементов удается отметить лишь едва уловимое увеличение их объема. Лишь в случаях гибели животных от болезни заметной разницы в изменениях между указанными группами уловить не удается.

Как видно из представленного материала, основные изменения в вегетативных ганглиях у морских свинок при экспериментальной чуме, улавливаемые при помощи примененной методики исследования, в принципе не отличаются от тех изменений, которые наблюдались отдельными авторами в ганглиях при других острых инфекционных заболеваниях у людей.

Пролиферацию и набухание глиозных элементов при крупозной пневмонии и брюшном тифе наблюдали Кулеша, Нещадименко и др., а Ходос считает пролиферацию сателлитов обычным явлением при остро протекающих инфекционных заболеваниях.<sup>1</sup> Широкогоров описал<sup>2</sup> изменения в симпатических ганглиях брюшной полости у людей, погибших от бубонной чумы. Этот автор обнаружил отек межуточной ткани и лейкоцитарную инфильтрацию ее,

<sup>1</sup> Цит. по Ю. М. Жаботинскому. Нормальная и патологическая морфология вегетативных ганглиев. Москва, 1953.

<sup>2</sup> См. С. Моногенов. Патанатомия чумы. Большая Медицинская энциклопедия. Т. 34. Москва, 1936, стр. 652.



а в ганглиозных клетках наблюдал гидропические изменения и кариолиз.

Наибольший интерес, на наш взгляд, представляет то, что в результате разработки методики взятия вегетативных ганглиев стала открытой возможность изучения патоморфологии вегетативных ганглиев у лабораторных животных при заражении их особоопасными инфекциями, что несомненно может сыграть большую роль в изучении патогенеза этих инфекций.

Не лишены интереса и установленные предварительные данные, свидетельствующие о более медленном и несколько более слабом разворачивании патологических изменений в ганглиях у морских свинок, подвергнутых во время заражения наркотическому сну, по сравнению с изменениями у свинок, не наркотизированных.

Р. С. Колесник, Н. Д. Алтарева  
и А. Ф. Пинигин

### ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВЫЗЫВАЕМОГО БРУЦЕЛЛЕЗНЫМ ШТАММОМ 793 ИНФЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА

Бруцеллезный штамм 793 изучался Н. А. Гайским для целей применения его в качестве противобруцеллезной вакцины. Вообще же он выделен в одном из районов из плода коровы Алмаатинским НИВИ (1933), которым затем рассылался как штамм коровьего типа. После смерти Гайского полученные им предварительные данные были подвергнуты анализу бруцеллезной лабораторией института АМН им. Гамалея (1948), где указанный штамм вакцинальным признан не был.

Предпринятое нами дальнейшее изучение этого штамма показало, что он обладает следующими свойствами.

Морфологически — это мелкие неподвижные грамтрицательные кокко-бациллы; посев на мясо-печеночный агар (одна двухмиллиметровая петля эмульсии культуры из разведения 100 000 микробов) дает пышный влажный белесоватый рост; посев в бульон приводит к образованию лишенной просветления мути; на пластинчатом агаре вырастают круглые выпуклые с правильными контурами гомогенные колонии, в проходящем свете — прозрачные, при падающем — белесоватые; эмульгируемость выросшей культуры хорошая; отношение ее к пестрому ряду индифферентное; по своим основным признакам, т. е. по отношению к дифференциальным краскам и образованию сероводорода этот штамм должен быть отнесен к свиному типу,<sup>1</sup> что видно из приводимой ниже таблицы сопоставления его с эталонными штаммами (табл. 1).

Свои основные свойства штамм довольно стойко удерживает на протяжении всего периода изучения (с 1950 г.) Произошло лишь повышение способности его выделять сероводород (с 1,5 до 13 мм).

Вызываемый штаммом 793 инфекционный процесс нами изучался в эксперименте на 94 морских свинках, разделенных поровну на 2 группы: 1) зараженные штаммом 793 и 2) зараженные штаммом ВА (контроль).

В той и другой группе животные после подкожного заражения (доза 1 млрд. микробов в 1 мл) убивались хлороформом через 2, 4, 6, 9, 11, 16, 20, 23, 30, 35, 40, 47, 51, 60, 80, 90, 98, 100, 112, 127,

<sup>1</sup> По Первушину (1941), образование сероводорода является для бруцелл свиного типа в высокой степени характерным и объясняется обильным ростом их на искусственных питательных средах.

Дифференциальные свойства штамма 793

Штамм	Отношение к CO <sub>2</sub> (последней генерации)	Диссоциация		Посев 1 петли взвеси бруцелл разведения 100000 микробов в 1 мл						Образование сероводорода в миллиметрах по дням						Заклочение	
		Реакция с трипафлавином	Реакция термопресципитации	фуксин		учет роста по дням				2	4	6	2	4	6		Итого
				2	4	6	2	4	6								
Эталонный Br abortus	Растет в любых условиях	Отрицательная	Отрицательная	+	+++	+++	—	—	—	—	—	3	2	—	5		
793	то же	то же	то же	—	—	—	—	—	+	++	++	2	6	5	13	Должен быть отнесен к типу Br. suis	
Эталонный Br. suis	то же	то же	то же	—	—	—	+	++	+++	+++	+++	8	4	2	14		

Обозначения: +++ от 20 колоний и больше; ++ от 10 до 20 колоний; + от 1 до 10 колоний; — роста не наблюдается.

143, 160, 174 и 190 суток — по 2—1 свинке на каждый срок — и немедленно вскрывались.

Для исследования (гистологического и бактериологического) брались мягкие ткани из места введения культуры, регионарные (паховые), подвздошные и отдаленные (противоположные паховые и подмышечные) лимфатические узлы, селезенка, легкие, печень, почки, миокард, надпочечники, а также головной и костный мозг. Взятый для гистологического исследования материал фиксировался в формалине и заливался в целлоидин. Срезы толщиной в 4—6 микрон красились гематоксилин-эозином и гематоксилин-пикрофуксином; в необходимых случаях материал резался посредством замораживания хлорэтилом и красился суданом III на жир.

Полученные бактериологические данные (табл. 2) показывают, что уже через 2—4 дня бруцеллы в довольно большом количестве содержатся в лимфатических узлах, а также в селезенке и некоторых других органах. При этом у животных, зараженных штаммом 793, микробы высеваются в заметно большем количестве, чем у животных, подвергнутых действию культуры штамма ВА.

На дальнейших сроках у тех и других животных бруцеллы высеваются из органов во все меньшем количестве, так что по истечении 37 дней органы вскрытых 32 морских свинок обеих групп оказываются стерильными. Только на 90-й день после заражения от двух свинок (по одной из каждой группы) были получены положительные результаты. При этом у свинки, зараженной культурой штамма 793, бруцеллы выделены из подмышечного и подвздошного лимфатических узлов, а у контрольной свинки, кроме того, из подчелюстного лимфатического узла и селезенки.

Таким образом, освобождение организма морской свинки от микроорганизмов штамма 793 по срокам совпадает с таковым при введении в акцинной культуре ВА. Об этом же свидетельствует табл. 3.

### Патоморфологические данные

В месте введения культуры при вскрытии животных на первых сроках после заражения отмечается гиперемия мягких тканей, а затем (9-е сутки) здесь формируется небольшой гнойник, причем в то время как у животных, зараженных штаммом ВА, этот гнойник рассасывается, у животных, зараженных штаммом 793, иногда наблюдается вскрытие его с образованием язвы. Гистологически у тех и других животных вначале обнаруживается очаг острого воспаления с гиперемией, отеком и инфильтрацией соединительнотканых прослоек подкожной жировой клетчатки и подлежащей мышцы полиморфноядерными лейкоцитами и гистиоцитами; при этом отмечается преобладание клеточной инфильтрации по ходу кровеносных сосудов с картиной краевого стояния лейкоцитов в их просвете и эмиграцией последних за пределы сосудов; в центре очага, как правило, наблюдается обильное пропитывание ткани серозной жидкостью с выпадением фибрина и наличие здесь кровоизлияний; многие лейкоциты претерпевают некроз в форме кариорексиса. С течением времени в области очага во все большем количестве накапливаются гистиоциты, лимфоциты и эпителиоидные клетки, причем все эти элементы располагаются преимущест-

Высеваемость бруцелл от зараженных морских свинок

Таблица 2

День исследо- вания	Зараженные штаммом 793											Зараженные вакцинным штаммом ВА										
	Место введения культуры	Паховый лимфатиче- ский узел	Подвздош- ный	Подмы- шечный	Подче- люстной	Селезенка	Печень	Легкое	Костный мозг	Головной мозг	Место введения культуры	Паховый лимфатиче- ский узел	Подвздош- ный	Подмы- шечный	Подчело- стной	Селезенка	Печень	Легкое	Костный мозг	Головной мозг	Надпочеч- ник	
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+				
4	+	+	+	+	+	+	+					+	+	+	+	+	+	+				+
6	+	+	+	+	+	+	+					+	+			+	+	+				
9	+	+	+	+		+						+	+			+	+	+				+
11	+	+	+	+		+						+	+			+	+	+				+
16		+	+	+		+						+	+									
20		+	+	+		+						+	+									
23	+	+	+			+						+	+									
30— 37		+	+	+		+						+	+			+	+	+				

Обозначения: + — сплошной рост на скошенном агаре;

++ — от 10 до 20 колоний;

+++ — от 20 колоний и больше;

+ — от 1 до 10 колоний.

Продолжительность высеваемости бруцелл  
от зараженных морских свинок

	Сроки вскрытия в днях после введения культуры													
	2	4	6	9	11	16	20	23	30— 40	41— 50	51— 60	61— 80	81— 100	101— 190
Зараженные штаммом 793.	$\frac{2}{2}$	$\frac{2}{2}$	$\frac{2}{2}$	$\frac{2}{2}$	$\frac{2}{2}$	$\frac{2}{2}$	$\frac{2}{2}$	$\frac{2}{2}$	$\frac{4}{3}$	—	—	$\frac{4}{0}$	$\frac{6}{1}$	$\frac{12}{0}$
Зараженные вакцинным штаммом В А.	$\frac{2}{2}$	$\frac{2}{2}$	$\frac{2}{2}$	$\frac{2}{2}$	$\frac{2}{2}$	$\frac{2}{2}$	$\frac{2}{2}$	$\frac{2}{2}$	$\frac{4}{4}$	—	—	$\frac{4}{0}$	$\frac{6}{1}$	$\frac{12}{0}$

Примечание: Числитель — количество вскрытых свинок;  
знаменатель — число свинок, у которых выделена  
культура.

венно на периферии очага — так, что на 6—9-е сутки после введения культуры в очаге удается более или менее отчетливо различать 2 части: центральную, образованную за счет полиморфноядерных лейкоцитов с прочими элементами воспалительной экссудации, и периферическую, представляющую собой скопление гистиоцитов, лимфоцитов, эпителиоидных, многоядерных гигантских клеток и фибробластов; нередко здесь наблюдается примесь плазматических клеток. В дальнейшем островоспалительные явления (гиперемия, отек, кровоизлияния и др.) ликвидируются, а по мере этого усиливается воспалительная пролиферация, захватывающая не только периферию очага, но и его центр, разделяя последний на небольшие гнезда лейкоцитов, между которыми расположены тяжи из эпителиоидных, гигантских, фибробластических и других элементов с признаками формирования здесь волокнистой соединительной ткани. В случае происшедшего изъязвления очага под микроскопом обнаруживается ограниченный дефект вовлеченной в очаг кожи с вышеохарактеризованной клеточной инфильтрацией ее соединительнотканного слоя по краям указанного дефекта. Дальнейшая динамика воспалительного очага, прослеженная до 20 суток, совершается по типу вытеснения полиморфноядерных лейкоцитов претерпевающей фиброзное превращение грануляционной тканью, в области которой иногда отчетливо заметны узелки, построенные из гистиоцитов и эпителиоидных клеток с примесью лимфоцитов, а также плазматических и многоядерных гигантских клеток. На отдаленных сроках (100—190 дней) у большинства животных вообще никаких изменений не установлено. Лишь у некоторых свинок (как в той, так и в другой группе) отмечается небольшая или умеренная инфильтрация кожи и межмышечных соединительнотканых прослоек лимфоцитами иногда с наличием здесь элементов рубцовой ткани.

Регионарные лимфатические узлы заметно увеличиваются в размере (от  $0,4 \times 0,5$  см до  $0,6 \times 0,8$  см), что отчетливее выражено у животных, зараженных культурой штамма 793; это увеличение оказывается наибольшим в период с 11 по 30-е сутки,

после чего у тех и других животных величина лимфатических узлов все более и более приближается к норме. Гистологически отмечается гиперплазия фолликулов и ретикулярной ткани, на фоне которой у животных, зараженных штаммом 793, в период от 10 по 80-й день наблюдается очаговая пролиферация крупных одноядерных элементов (микрофото 1 и 2), что иногда сочетается с формированием здесь единичных узелков из ретикулярных, эпителиоидных и изредка попадающихся гигантских клеток, причем в отдельных случаях в центре этих узелков намечается некроз с распадом клеточных ядер; у одной свинки подобный узелок обнаружен на 160-й день после заражения (микрофото 3), причем некроз в центре узелка здесь сочетается с фиброзным превращением в его краевой части. У животных, зараженных штаммом ВА, вышеотмеченная пролиферация клеточных элементов выражена гораздо менее отчетливо, а формирование узелков вообще не установлено. На отдаленных сроках изменения у тех и других животных в общем ограничиваются умеренно выраженной преимущественно ретикулярной гиперплазией ткани, причем, как правило, с обильной инфильтрацией последней эозинофилами (микрофото 4).

Подвздошные лимфатические узлы умеренно увеличиваются в размере (от  $0,3 \times 0,5$  до  $0,4 \times 0,6$  см), а гистологические изменения в них совпадают по характеру с таковыми в регионарных лимфатических узлах, но здесь реже встречаются и раньше перестают обнаруживаться очажки пролиферации ретикулярных и эпителиоидных клеток (микрофото 5 и 6), опять-таки более многочисленные у животных, зараженных культурой штамма 793.

В отдаленных лимфатических узлах (противоположные паховые и подмышечные) также развивается умеренно выраженная затяжная преимущественно ретикулярная гиперплазия ткани с наличием на средних сроках (20—35-е сутки) у животных, зараженных штаммом 793, единичных очажков пролиферации ретикулярных и эпителиоидных клеток, а также с отмечающейся на отдаленных сроках более или менее обильной инфильтрацией ткани эозинофилами.

Селезенка на всех сроках представляется то более, то менее, а в общем немного припухшей, что нередко сочетается с некоторым увеличением в объеме ее фолликулов; у животных, зараженных культурой штамма 793, кроме того, изредка (у 2 свинок из 47) попадались единичные мелкие беловатые узелки. Гистологически наиболее постоянным типом изменений является гиперплазия фолликулов и пульпы (микрофото 7 и 8), нередко весьма отчетливая и, как правило, более заметная у животных, зараженных штаммом 793, у которых при этом на ранних и средних сроках (10—30-е сутки) изредка наблюдается образование единичных очажков (микрофото 9) из крупных ретикулярного типа клеток; наибольшей выраженности указанная гиперплазия достигает между 20 и 50-м днями, но вообще она имеет место вплоть до самых отдаленных сроков; в венозных синусах пульпы увеличиваются в количестве полиморфноядерные лейкоциты; у тех и других животных, а чаще у зараженных культурой штамма 793, в пульпе можно наблюдать признаки миелоидной метаплазии ткани; кроме того, среди прочих клеточных элементов в пульпе на разных сроках у многих животных при употреблении того и другого штамма попадают так называемые

гиалинизированные клетки,<sup>1</sup> иногда довольно многочисленные. Наконец, обращает на себя внимание развивающаяся на отдаленных сроках более или менее обильная инфильтрация пульпы и заполнение венозных синусов эозинофилами.

Легкие у тех и других животных при вскрытии последних обнаруживают в общем одну и ту же картину; так, на первых сроках после введения культуры обычно имеет место небольшая и неравномерно выраженная гиперемия; с 4-х суток после заражения обнаруживаются периферически расположенные небольшие очажки — вначале красноватые, затем серовато-красные, затем серовато-розовые, а в заключение — сероватые; начиная с 30-х суток, эти очажки встречаются все реже и реже, а на отдаленных сроках они либо вовсе не обнаруживаются, либо являются единичными. У одной свинки, зараженной культурой штамма 793, на 90-е сутки с момента заражения было установлено значительное диффузное полнокровие легочной ткани с уплотнением ее, подозрительным в смысле пневмонии.<sup>2</sup>

Под микроскопом у большинства животных той и другой группы, начиная с самых ранних сроков и кончая самыми отдаленными, обращает на себя внимание то более, то менее обильная и неравномерно выраженная инфильтрация межальвеолярных перегородок (микрофото 10) за счет гистиоцитов, эпителиоидных клеток и лимфоцитов, нередко с примесью эозинофилов и гиалинизированных клеток; часто эта инфильтрация приобретает характер довольно крупных очагов (микрофото 11 и 12), в области которых альвеолярная структура ткани неразличима.

Весьма постоянно — почти на всех сроках имеет место умеренная или массивная периваскулярная инфильтрация (микрофото 13) лимфоцитами, мелкими эпителиоидными клетками и гистиоцитами, иногда захватывающая наружные слои самих стенок сосудов. Изредка — в том числе и на отдаленных сроках — подобная периваскулярная инфильтрация приобретает характер расположенных близ сосудов и в непосредственной связи с ними четко очерченных очагов, причем в этом случае среди прочих клеточных элементов инфильтрата изредка попадаются крупные клетки с несколькими нетипично расположенными ядрами. Как правило, легочная ткань в той или иной степени гиперемирована, местами отечна, у некоторых животных в ней встречаются небольшие кровоизлияния.

У свинки, у которой при вскрытии легкие обнаруживали признаки острой пневмонии, гистологически установлена резко выраженная диффузная гиперемия ткани с заполнением альвеол эритроцитами, в то время как вышеотмеченная клеточная инфильтрация представлена сравнительно слабо.

Печень при вскрытии животных на первых сроках выглядит совершенно нормальной; затем у некоторых животных обнаруживаются немногочисленные (у свинок, зараженных штаммом 793) или единичные (у свинок, зараженных штаммом ВА) мелкие беловатые узелки, что имеет место при употреблении штамма 793 с 6 по 90-й день, при употреблении штамма ВА — с 11 по 38-й день;

<sup>1</sup> Круглые или овальные элементы с однородной резко эозинофильной протоплазмой и плотным смещенным к периферии серповидным ядром.

<sup>2</sup> Посев на мясо-печеночный агар роста бруцелл не дал.



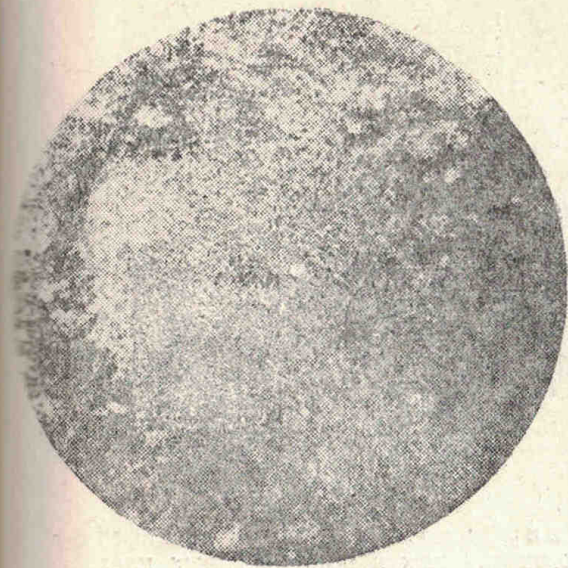
кроме того, независимо от примененного штамма с 11 по 47-й день довольно закономерно отмечается некоторая тусклость органа на его разрезе; на более поздних сроках это наблюдается только изредка.

При гистологическом исследовании органа отмечается гипертрофия и гиперплазия звездчатых клеток с умеренно выраженной мелкоочаговой и преобладающей близ кровеносных сосудов пролиферацией их (микрофото 14 и 15), несколько более отчетливой у животных, зараженных культурой штамма 793, и наблюдающейся при употреблении того и другого штамма от самых ранних до самых поздних сроков; пролиферация звездчатых элементов имеет мелкоочаговый характер и преобладает близ кровеносных сосудов; иногда среди пролиферирующих звездчатых элементов наблюдается примесь эпителиоидных клеток; наряду с этим у некоторых животных (с 4 по 47-й день и чаще при употреблении штамма 793) имеет место периваскулярная инфильтрация за счет звездчатых элементов, гистиоцитов, эпителиоидных клеток и лимфоцитов; изредка у тех и других животных, но несколько чаще у зараженных штаммом 793, до 60-го дня с момента заражения обнаруживаются очажки некоторого некробиоза печеночной паренхимы в форме явлений карио- и плазмолиза с пролиферацией здесь звездчатых, а иногда и эпителиоидных клеток (микрофото 16 и 17). Кроме того, у двух свинок из числа зараженных штаммом 793, изредка обнаруживаются единичные мелкие кровоизлияния в паренхиме с более или менее отчетливой инфильтрацией их лимфоцитами, гистиоцитами и эпителиоидными клетками. У многих животных той и другой группы на средних и отчасти на отдаленных сроках отмечается небольшая зернисто-жировая дистрофия паренхимных элементов органа в форме неотчетливости их границ со слегка тусклым видом, ячеистостью и иногда вакуолистостью протоплазмы.<sup>1</sup>

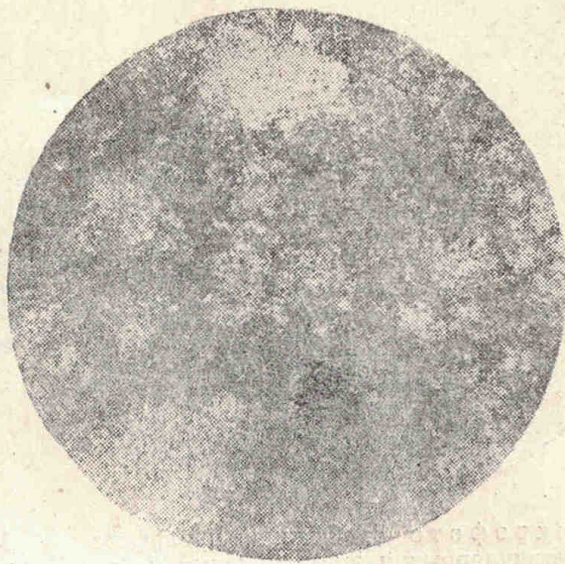
Почки при вскрытии у большинства животных представляются вполне нормальными; лишь иногда (в среднем для обоих штаммов между 11 и 35-м днем) можно было наблюдать незначительную тусклость органа на его разрезе. Под микроскопом весьма постоянно (за исключением отдаленных сроков) и у большинства животных той и другой группы отмечается слабо выраженная зернистая дистрофия эпителия извитых канальцев в форме некоторой набухлости клеток, неотчетливости их границ и слегка тусклого вида протоплазмы; довольно часто имеет место мелкоклеточная очаговая инфильтрация межуточной ткани (микрофото 18 и 19); обычно преобладающая близ кровеносных сосудов и клубочков и наблюдающаяся на средних и отдаленных сроках; иногда имеет место умеренно выраженная гиперплазия эндотелия клубочков; наконец, на ранних и средних сроках после заражения ткань бывает диффузно гиперемирована.

В миокарде, имеющем нормальный вид при вскрытии животных, гистологически (приблизительно одинаково для обеих групп животных) изредка встречаются небольшие очажки инфильтрации межуточной ткани за счет лимфоцитов, мелких эпителиоидных клеток и гистиоцитов, располагающиеся, как правило, близ кровеносных сосудов; мышечные волокна на ранних и средних сроках не-

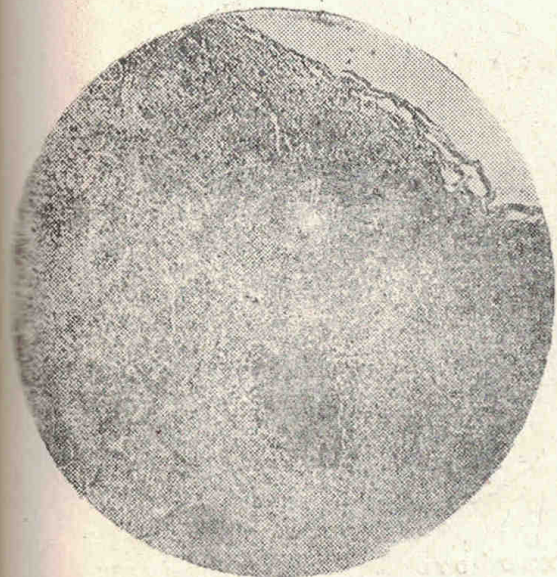
<sup>1</sup> Окраска суданом III на жир дала положительный результат.



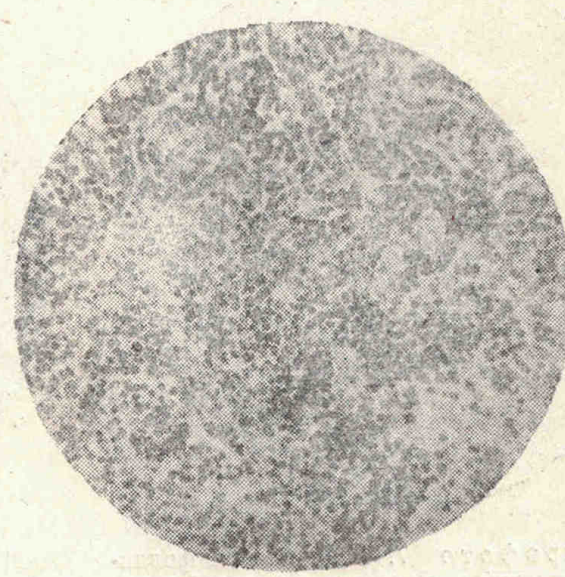
Микрофото 1. Очаги пролиферации ретикулярных клеток в регионарном лимфатическом узле у морской свинки, зараженной штаммом 793 (убита на 35-й день). Ув. 80 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 2. Очаги пролиферации ретикулярных клеток в регионарном лимфатическом узле у морской свинки, зараженной штаммом 793 (убита на 80-й день). Ув. 80 раз; окраска гематоксилин-эозином.



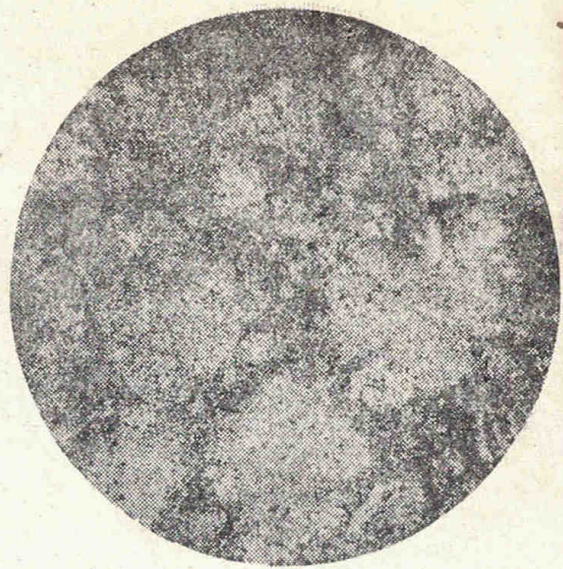
Микрофото 3. Воспалительный узелок с некрозом в центре в регионарном лимфатическом узле на позднем сроке (160-й день) у морской свинки, зараженной штаммом 793. Ув. 56 раз; окраска гематоксилин-эозином.



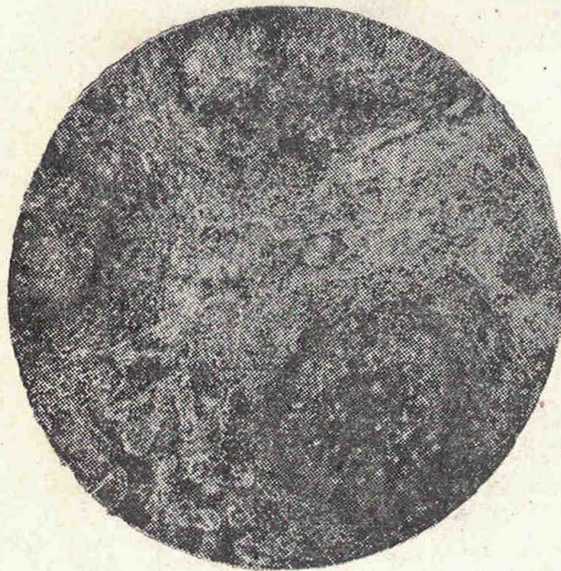
Микрофото 4. Инфильтрация эозинофилами (см. зернистые элементы) в регионарном лимфатическом узле на отдаленном сроке (174-й день) у морской свинки, зараженной штаммом 793. Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-эозином.



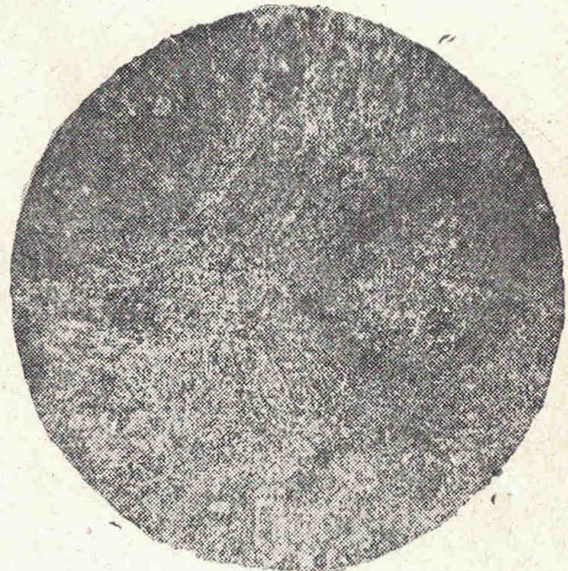
Микрофото 5. Очажки пролиферации ретикулярных и эпителиоидных клеток в подвздошном лимфатическом узле у морской свинки, зараженной штаммом 793 (убита на 47-й день). Ув. 80 раз; окраска гематоксилин-эозином.



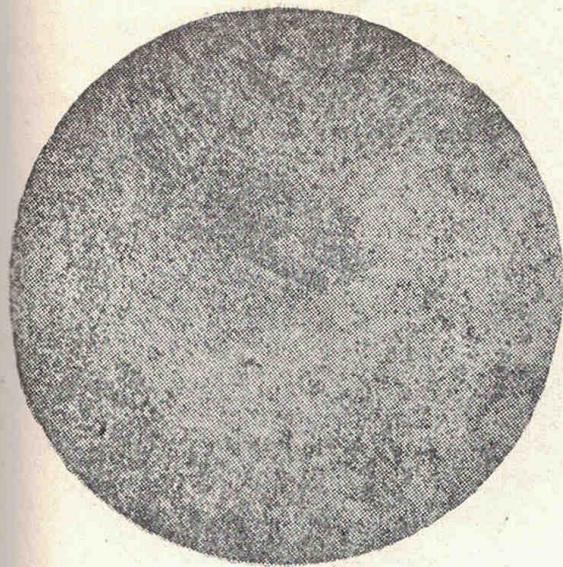
Микрофото 6. Очажки пролиферации ретикулярных и эпителиоидных клеток в подвздошном лимфатическом узле у морской свинки, зараженной штаммом ВА (убита на 38-й день). Ув. 80 раз; окраска гематоксилин-пикрофуксином.



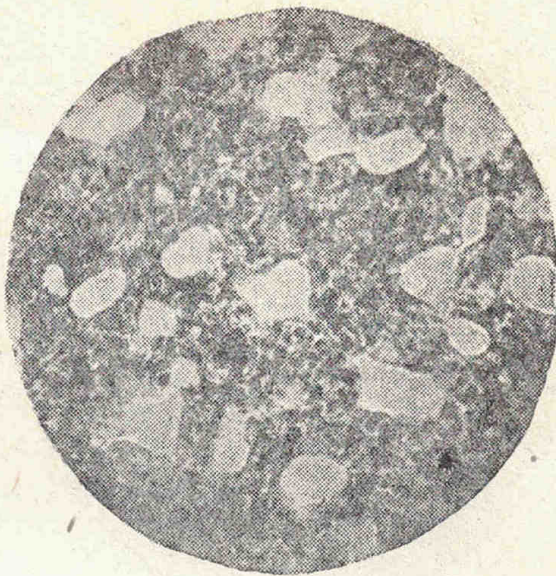
Микрофото 7. Гиперплазия фолликулов и пульпы в селезенке у морской свинки, зараженной штаммом 793 (убитой на 40-й день). Ув. 80 раз; окраска гематоксилин-эозином.



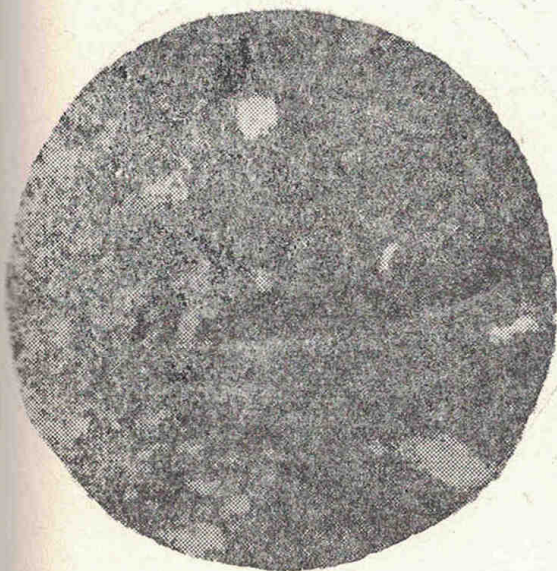
Микрофото 8. Гиперплазия фолликулов и пульпы в селезенке у морской свинки, зараженной штаммом ВА (убита на 40-й день). Ув. 80 раз; окраска гематоксилин-эозином.



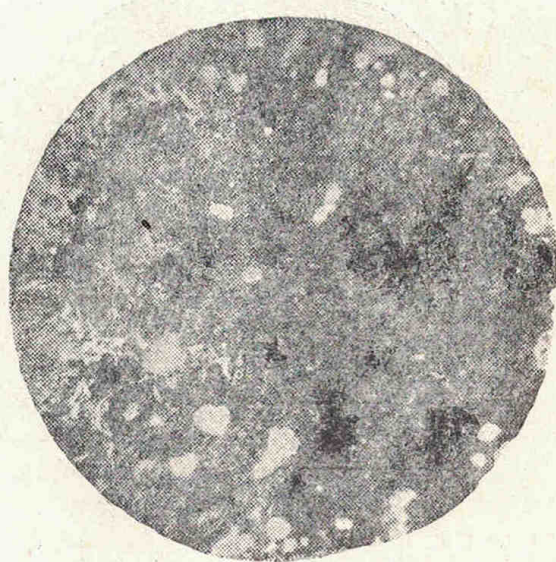
Микрофото 9. Очажки пролиферации ретикулярных элементов пульпы в селезенке у морской свинки, зараженной штаммом 793 (убита на 9-й день). Ув. 120 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 10. Клеточная инфильтрация межальвеолярных перегородок в легком у морской свинки, зараженной штаммом 793 (убита на 47-й день). Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-эозином.



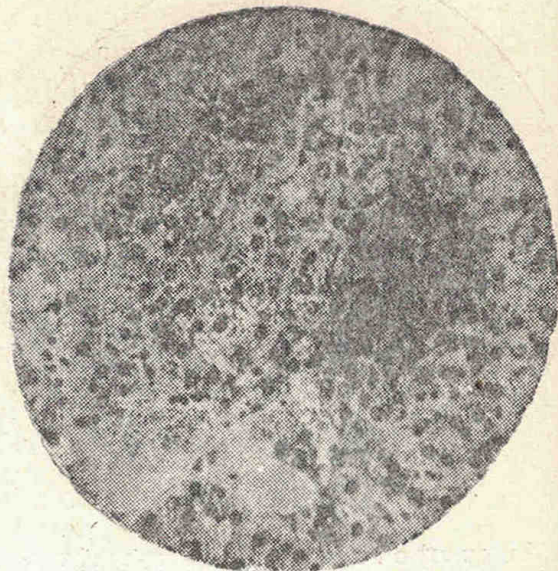
Микрофото 11. Очаг клеточной инфильтрации в легком у морской свинки, зараженной штаммом 793 (убита на 112-й день). Ув. 80 раз; окраска гематоксилин-эозином.



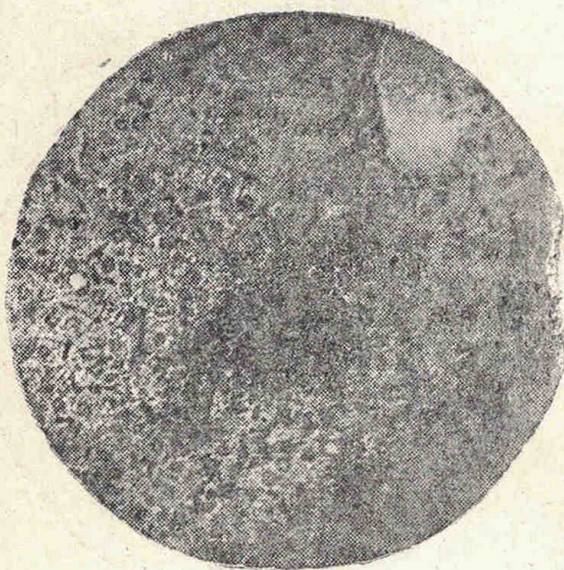
Микрофото 12. Очаги клеточной инфильтрации в легком у морской свинки, зараженной штаммом ВА (убита на 98-й день). Ув. 56 раз; окраска гематоксилин-эозином.



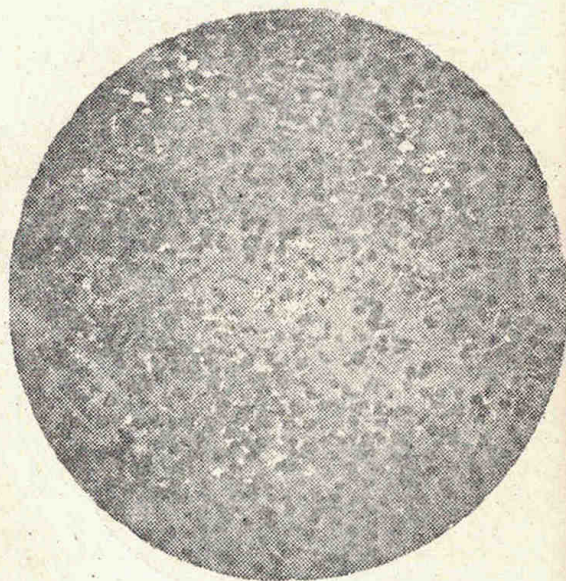
Микрофото 13. Инфильтрация мелкими клетками по ходу кровеносного сосуда в легком у морской свинки, зараженной штаммом 793 (убита на 143-й день). Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-эозином.



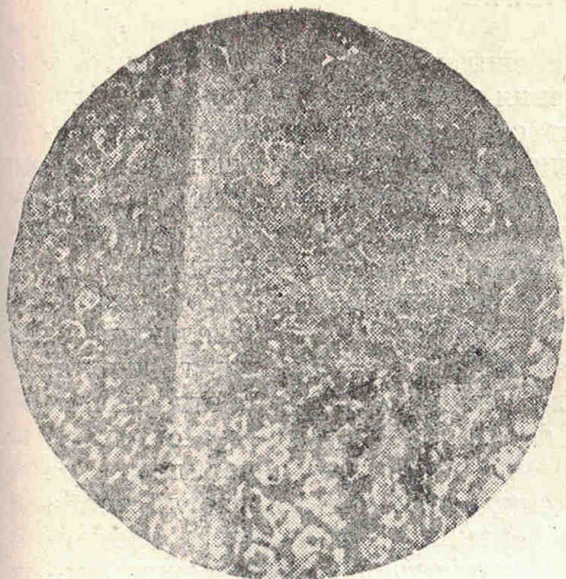
Микрофото 14. Очажок пролиферации звездчатых клеток близ кровеносного сосуда в печени у морской свинки, зараженной штаммом 793 (убита на 20-й день). Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-эозином.



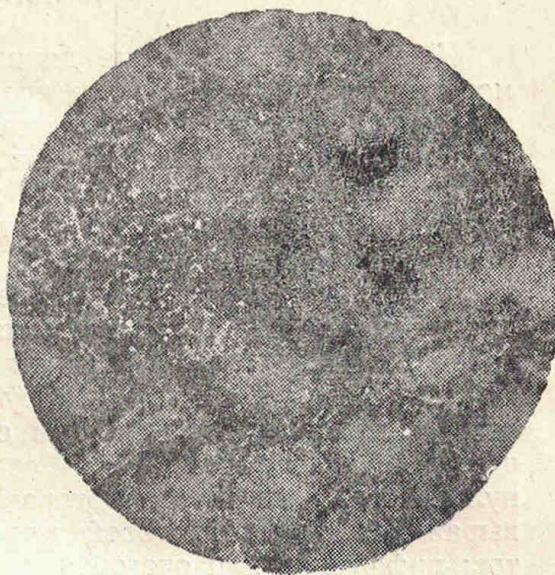
Микрофото 15. Очажок пролиферации звездчатых клеток в печени у морской свинки, зараженной штаммом ВА (убита на 11-й день). Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 16. Некробиотический очажок в печени у морской свинки, зараженной штаммом 793 (убита на 9-й день). Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-пикрофуксином.



Микрофото 17. Некробиотический очажок в печени у морской свинки, зараженной штаммом ВА (убита на 36-й день). Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-пикрофуксином.



Микрофото 18. Очаг клеточной инфильтрации междуточной ткани в почке у морской свинки, зараженной штаммом 793 (убита на 112-й день). Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-эозином.

редко лишены отчетливой исчерченности и иногда слегка тускловаты на вид.

Надпочечники при вскрытии животных на вид не изменены. При гистологическом исследовании органа здесь бывает заметна небольшая гиперплазия эндотелиальных элементов мозгового и иногда коркового вещества; у некоторых животных можно наблюдать также незначительную тусклость паренхимных элементов коркового слоя; у одной свинки из числа зараженных штаммом 793 в корковом слое установлено резкое расширение и полнокровие капилляров с наличием здесь множественных кровоизлияний.<sup>1</sup>

В головном мозгу, начиная с 9 по 20-й день после заражения,<sup>2</sup> независимо от примененного штамма отмечается некоторая тусклость протоплазмы отдельных ганглиозных клеток с незначительным увеличением вокруг них клеток-сателлитов. На отдаленных сроках здесь отчетливых изменений не установлено.

В костном мозгу, исследованном только на отдаленных сроках, кроме некоторой гиперплазии его, как правило, с увеличением в количестве мегакариоцитов, никаких изменений не отмечается.

<sup>1</sup> У этой же свинки обнаружены более или менее типичные грануломы в регионарном лимфатическом узле при отсутствии существенных изменений в селезенке, печени и других органах.

<sup>2</sup> На последующих сроках вплоть до отдаленных (до 98-го дня) мозг не исследовался.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Все вышеприведенные данные свидетельствуют о том, что у морских свинок в результате введения им под кожу культуры бруцеллезного штамма 793 возникает слабо выраженная специфическая инфекция с затяжным течением. Бактериологически эта инфекция характеризуется ранним и обильным обсеменением органов бруцеллами, которые здесь обнаруживаются довольно продолжительное время, проявляя общую склонность к исчезновению.

Основными патоморфологическими проявлениями этой инфекции являются: очаг поражения мягких тканей в месте введения микробов, обычно с образованием здесь вскрывающегося гнояника; гиперплазия ближайших к месту введения культуры и отдаленных лимфатических узлов — иногда с формированием в них специфических очажков; припухлость селезенки — за счет гиперплазии ее пульпы и фолликулов, некоторого миеоза пульпы и иногда слабо выраженной мелкоочаговой пролиферации ретикулярных элементов; диффузная или очаговая клеточная инфильтрация межальвеолярных перегородок легких с формированием здесь единичных специфических узелков и образованием более или менее отчетливых периваскулярных инфильтратов; слабо выраженная зернисто-жировая дистрофия паренхимных элементов печени, гиперплазия ее ретикуло-эндотелиальных элементов и мелкоочаговая пролиферация последних; слабо выраженная зернистая дистрофия эпителия извитых канальцев почек с мелкоочаговой клеточной инфильтрацией межуточной ткани; слабо выраженная межуточная инфильтрация миокарда; гиперплазия ретикуло-эндотелиальных элементов надпочечников и др.

Подобная сравнительно слабая выраженность патоморфологических проявлений инфекции, учитывая высокую чувствительность морских свинок к бруцеллезу, свидетельствует о слабой патогенной силе штамма, который, как показывают бактериологические данные, по своим инвазионным свойствам близок к вакцинному штамму ВА, хотя и несколько превышает его в этом отношении. Об этом же говорит качественное тождество патоморфологических изменений с таковыми в опыте с употреблением бруцеллезной вакцины ВА при склонности тех и других к ликвидации на отдаленных сроках.<sup>1</sup> Превышение первых над вторыми по степени их выраженности свидетельствует о соответствующей разнице в инфекционной силе штаммов, а может быть и означает определенную разницу в их иммунизаторной эффективности.

С другой стороны, учитывая, что вакцинальные и вирулентные штаммы составляют один по отношению к другому новое качественное выражение соответствующих количественных переходов, нельзя дать гарантии в том, что вышеуказанное превышение инфекционной силы испытуемого штамма не может при тех или иных условиях (например, при каком-либо неблагоприятном состоянии макроорганизма) проявиться в форме типичного бруцеллеза; в этом смысле следует указать на наблюдавшееся у зараженных испытуе-

<sup>1</sup> В полном соответствии с этим находятся данные Вершиловой и Кокориной (1954) о характере патоморфологических изменений у морских свинок, зараженных подкожно (доза 1 млрд. микробов) бруцеллезной вакциной ВА.

мым штаммом животных большее, чем при употреблении вакцины ВА, количество узелков в органах, более частое обнаружение в печени некробиотических очажков, наблюдавшиеся в этом органе у некоторых свинок единичные мелкие кровоизлияния с инфильтрацией их пролиферирующими клеточными элементами; все это известным образом приближает патоморфологическую картину инфекционного процесса, вызванного испытуемым штаммом к тому, что свойственно типичному бруцеллезу, хотя в общем она далеко не совпадает с таковой при бруцеллезной инфекции. В этом отношении испытуемый бруцеллезный штамм напоминает собой исследованный Дорофеевым и Чалисовым (1947) вакцинный штамм № 19, который в опытах авторов с подкожным введением его морским свинкам в дозе 50 и 500 млн. микробов вызывал у этих животных образование очагов некроза и специфической грануляционной ткани в месте введения культуры, склонность к формированию из клеток эпителиоидного типа милиарных и более крупных узелков с исходом последних в фиброз в лимфатических узлах, «узелково-грануломатозный процесс» в селезенке, слегка инфильтрированные клеточными элементами «единичные милиарные некробиотические очажки» в печени, изредка обнаруживающиеся грануломы и более или менее обширные клеточные инфильтраты в легких.<sup>1</sup>

В заключение следует сказать, что хотя результаты опыта свидетельствуют о том, что штамм является значительно ослабленным, для суждения о возможности использования его в качестве живой вакцины необходимы дальнейшие исследования, в частности испытание его в меньшей дозировке.

---

<sup>1</sup> На основании своих опытов с подкожным заражением белых мышей, морских свинок и овец эти авторы приходят к заключению, что указанный бруцеллезный штамм для первых остается вирулентным, вызывая у них типичный бруцеллез, для вторых — сохраняет частичную вирулентность и способен вызывать у них лишь слабо выраженный «специфический хронический бруцеллезный процесс», для третьих вообще является безвредным — поскольку у них результат заражения морфологически ограничивается лишь местным воспалительным процессом.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Вершилова П. А. и Кокорин И. Н. Морфологическая и бактериологическая характеристика вакцинного процесса при бруцеллезе. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии, 1954, № 1, стр. 7.
2. Дорофеев А. А. и Чалисов И. А. Бактериология и патоморфология при заражении экспериментальных животных штаммом № 19. Сборник работ научно-исследовательского института эпидемиологии и гигиены Вооруженных Сил Союза ССР, 1947, вып. 2, стр. 217.



Н. Д. Алтарева, Р. С. Колесник

### ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ О БРУЦЕЛЛЕЗЕ У ЗАРАЖЕННЫХ ПОСЛЕ ВАКЦИНАЦИИ ЖИВЫМИ КУЛЬТУРАМИ МОРСКИХ СВИНОК

Настоящая работа является естественным продолжением нашей работы, посвященной выяснению характера взаимодействия с организмом ослабленного бруцеллезного штамма 793.<sup>1</sup>

Выясненный в эксперименте на морских свинках благоприятный ход инфекционного процесса, возникающего у этих животных после подкожного введения им культуры указанного штамма, и признаки возможного превосходства штамма по его иммунизаторной эффективности над общепринятой вакциной ВА требуют наблюдения над ходом самой бруцеллезной инфекции, развивающейся в организме животных, предварительно вакцинированных этим штаммом.

Исследование выполнено на 56 морских свинках, разделенных на группы следующим образом:

1. Животные (21 свинка), зараженные бруцеллезом после предварительной (за 30—70 дней) подкожной вакцинации культурой штамма 793 (доза — 1 млрд. микробов).

2. Животные (21 свинка), зараженные бруцеллезом после предварительной (тот же срок) подкожной вакцинации культурой штамма ВА (та же доза).

3. Животные (14 свинок), зараженные бруцеллезом<sup>2</sup> без предварительной вакцинации (контроль).

На различных сроках после заражения (6 часов, 1, 10, 21, 26, 30, 31, 42, 49, 63; 71, 80, 91 и 117 суток) животные убивались хлороформом (предварительно вакцинированные — по 2—1 свинке на срок, контрольные — по 1 свинке на срок) и немедленно вскрывались.

При вскрытии производился посев из органов на бруцеллы. Взятый для гистологического исследования материал фиксировался в 12% формалине и заливался в целлоидин. Срезы красились гематоксилин-эозином и гематоксилин-пикрофуксином.

Бактериологическое исследование морских свинок, вакцинированных и затем зараженных двумя инфицирующими дозами вирулентной культуры бруцелл, показывает, что из 16 свинок, предва-

<sup>1</sup> Р. С. Колесник, Н. Д. Алтарева и А. Ф. Пиннигин. Патоморфологическая и бактериологическая характеристика вызываемого бруцеллезным штаммом 793 инфекционного процесса. См. настоящий сборник.

<sup>2</sup> Во всех трех группах животных для заражения была употреблена культура вирулентного штамма овечьего типа в количестве 2—5 инфицирующих доз подкожно.

рительно вакцинированных штаммом 793, вирулентная культура выделена только от одной свинки на 117-й день после заражения (генерализованная форма инфекции); культура вакцинального штамма выделена от трех свинок — на 32, 43 и 71-й день.<sup>1</sup>

Из 16 свинок, предварительно вакцинированных штаммом ВА, вирулентная культура выделена от шести животных (у пяти генерализованная форма инфекции; у одного — регионарная), вакцинальная культура — от трех.<sup>2</sup>

Из 9 контрольных свинок культура бруцелл выделена от пяти (до 63-го дня после заражения).<sup>3</sup>

У животных (10 свинок), зараженных после предварительной вакцинации пятью инфицирующими дозами вирулентной культуры бруцелл и исследованных в сроки от 6 часов до 49-го дня после заражения, посевы органов оказались стерильными. Из 5 контрольных свинок культура бруцелл выделена от двух (в одном случае — железистая форма инфекции, в другом — генерализованная) — на 31 и 49-й день после заражения.<sup>4</sup>

Результаты бактериологического исследования животных (как предварительно вакцинированных, так и контрольных) приводятся в нижеследующей таблице:

Штамм	Количество свинок	Дни бактериологического исследования и результат									
		6 часов — 10 дней	11—20	21—30	31—40	41—50	51—60	61—70	71—80	81—90	91—117
793	21	$\frac{3}{0}$	$\frac{2}{1в}$	—	$\frac{3}{1в}$	$\frac{5}{1в}$	—	$\frac{2}{0}$	$\frac{4}{1в}$	—	$\frac{2}{1з}$
ВА	21	$\frac{3}{0}$	—	$\frac{2}{0}$	$\frac{3}{1в . 1з}$	$\frac{5}{2в . 1з}$	—	$\frac{2}{2з}$	$\frac{4}{1з}$	—	$\frac{2}{1з}$
Контроль	14	$\frac{3}{0}$	—	$\frac{1}{1}$	$\frac{2}{2}$	$\frac{3}{3}$	—	$\frac{1}{1}$	$\frac{2}{0}$	—	$\frac{2}{0}$

Обозначения: Числитель — количество вскрытых свинок; знаменатель — количество свинок, от которых выделена культура; в — культура, введенная при иммунизации; з — культура заражения.

Из таблицы видно, что заражение животных бруцеллезом после предварительной вакцинации их штаммом 793 дало положительный результат только у одного из двадцати одного, тогда как из такого же количества свинок, вакцинированных штаммом ВА, заразилось шесть.

<sup>1</sup> В одном случае выделенная культура не была дифференцирована.

<sup>2</sup> Посевы от остальных свинок оказались стерильными; в ряде случаев они были загрязнены.

<sup>3</sup> Посевы от остальных животных были стерильны; в одном случае получен рост посторонней микрофлоры.

<sup>4</sup> Как известно, животные, зараженные малыми дозами бруцеллезной культуры, должны вскрываться не ранее 30-го дня, так как инфекция в этом случае развивается медленно и на более ранних сроках может остаться невыявленной.

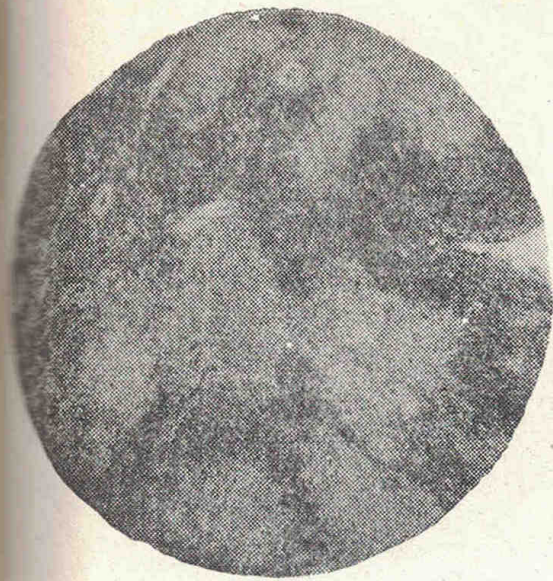
При вскрытии убитых животных и гистологическом исследовании их органов установлена следующая патоморфологическая картина.

Регионарные лимфатические узлы обычно представляются увеличенными в размере (от  $0,4 \times 0,4$  см до  $0,6 \times 0,8$  см), уплотненными и сочными, что наблюдается на сроках с 20 по 70-е сутки и в общем отчетливее выражено у контрольных животных; определенной зависимости степени увеличения от примененного для предварительной вакцинации штамма не видно. Гистологически у животных, зараженных после предварительной вакцинации, с самого начала вплоть до 20-х суток изменения состоят в более или менее отчетливой лимфоидной и ретикулярной гиперплазии ткани, приблизительно одинаковой для обоих штаммов. Начиная с этого срока и до 80-х суток, у отдельных животных (гораздо чаще у предварительно иммунизированных вакциной ВА) на фоне указанной гиперплазии обнаруживаются очаги пролиферации ретикулярных и эпителиоидных клеток (микрофото 1), как правило, многочисленные и сливные; нередко в области очагов встречаются многоядерные гигантские клетки (микрофото 2); иногда же здесь в центре отмечается некроз с более или менее отчетливым кариорексисом (микрофото 3) и слабо выраженная инфильтрация полиморфноядерными лейкоцитами. На последующих сроках изменения ограничиваются умеренной гиперплазией ткани, которая иногда сочетается с обильной инфильтрацией последней эозинофилами.

У животных, зараженных без предшествующей вакцинации, изменения в регионарных лимфатических узлах по характеру совпадают с вышеописанными; разница состоит в том, что здесь гиперплазия ткани гораздо более отчетлива, а воспалительные очажки (микрофото 4) встречаются чаще; кроме того, они бывают весьма многочисленны (микрофото 5) или же достигают крупной величины, имея при этом вид гранулом (микрофото 6) с многоядерными гигантскими клетками, а также некрозом и лейкоцитарной инфильтрацией в центре.

Подвздошные лимфатические узлы также немного увеличены (в среднем в период с 20 по 70-е сутки); увеличение это колеблется в пределах от  $0,3 \times 0,4$  см до  $0,4 \times 0,6$  см, причем несколько чаще отмечается у животных, предварительно иммунизированных вакциной ВА, и еще чаще у контрольных. Гистологически у вакцинированных, а затем зараженных животных в той и другой группе нередко можно наблюдать отсутствие ясных изменений; вообще же здесь отмечается умеренная гиперплазия ткани, которая у некоторых свинок сочетается с наличием узелков (микрофото 7), построенных по типу очаговой пролиферации ретикулярных, эпителиоидных и нередко многоядерных гигантских клеток, иногда с намечающимся или отчетливо выраженным некрозом в центре. Подобные узелки, обнаруживаемые с 20 по 70-й день, значительно чаще встречаются у животных, зараженных после иммунизации вакциной ВА, у которых они к тому же представляются более крупными или же многочисленными сливными, притом с более резким некрозом в центре (микрофото 8).

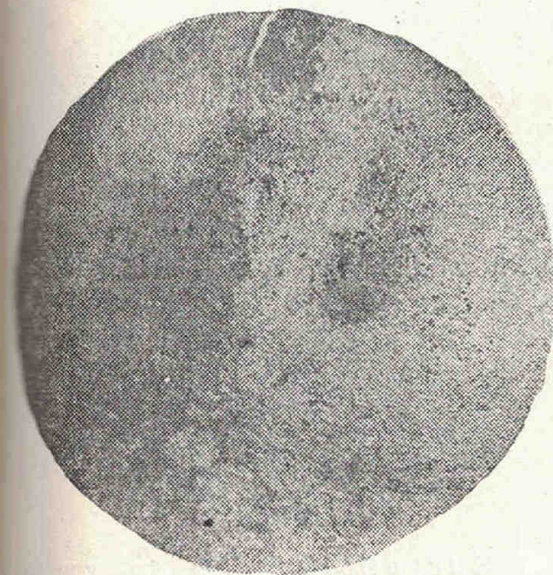
У контрольных свинок имеет место отчетливая ретикулярная гиперплазия ткани и очаговая пролиферация ретикулярных и эпи-



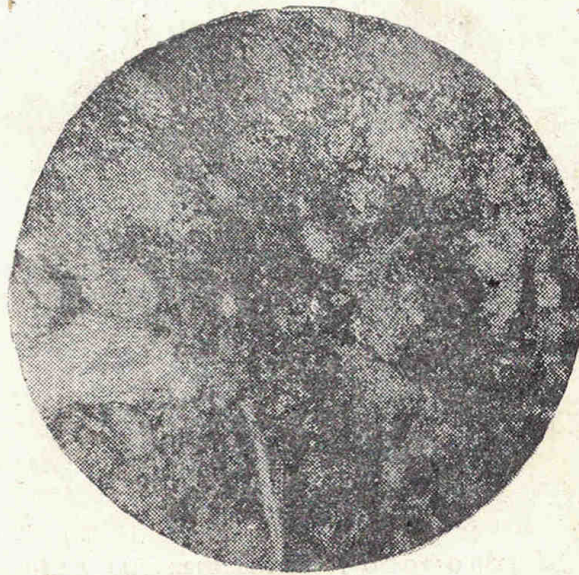
Микрофото 1. Очаги пролиферации циркулярных и эпителиоидных клеток в регионарном лимфатическом узле у морской свинки, зараженной бруцеллезом после вакцинации культурой штамма 793 и убитой на 42-й день после заражения. Ув. 56 раз; окраска гематоксилин-пикрофуксином.



Микрофото 2. Многоядерные гигантские клетки в области продуктивно-воспалительного очажка в регионарном лимфатическом узле у морской свинки, зараженной бруцеллезом после вакцинации культурой штамма ВА и убитой на 49-й день после заражения. Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-эозином.



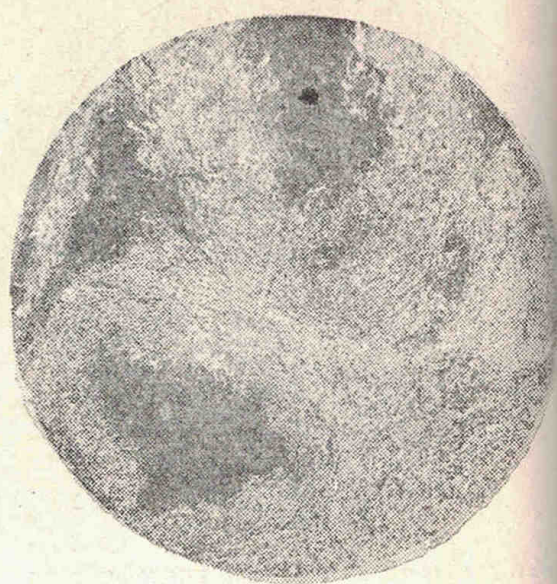
Микрофото 3. Крупный воспалительный узелок с некрозом в центре в регионарном лимфатическом узле у морской свинки, зараженной бруцеллезом после вакцинации культурой штамма ВА и убитой на 42-й день после заражения. Ув. 56 раз; окраска гематоксилин-пикрофуксином.



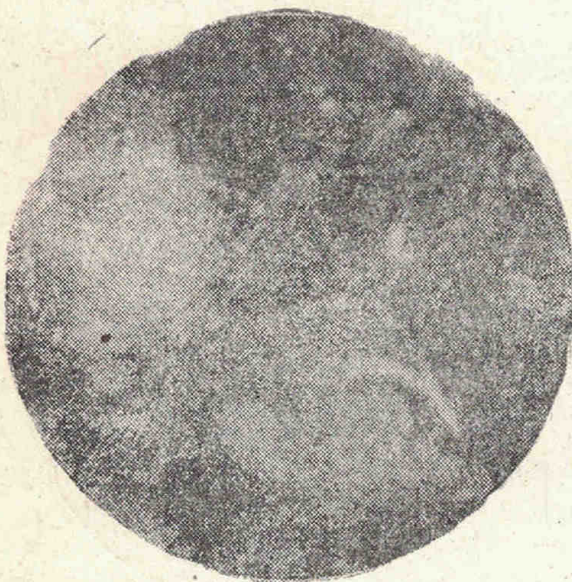
Микрофото 4. Воспалительные очажки в регионарном лимфатическом узле у морской свинки, зараженной бруцеллезом без предварительной вакцинации и убитой на 21-й день после заражения. Ув. 56 раз; окраска гематоксилин-пикрофуксином.



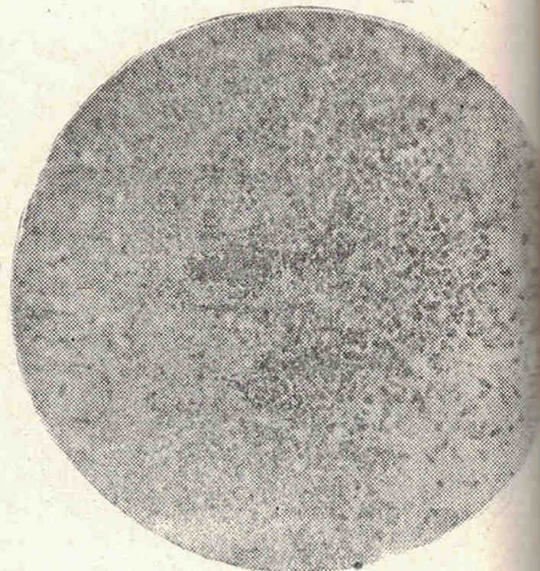
Микрофото 5. Множество воспалительных очажков в регионарном лимфатическом узле у морской свинки, зараженной бруцеллезом без предварительной вакцинации и убитой на 42-й день после заражения. Ув. 56 раз; окраска гематоксилин-эозином.



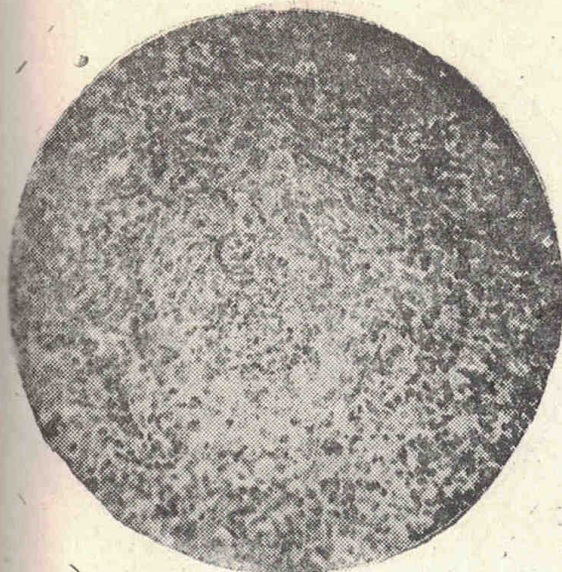
Микрофото 6. Воспалительные узелки типа гранулом с резко выраженным некрозом в центре в регионарном лимфатическом узле у морской свинки, зараженной бруцеллезом без предварительной вакцинации и убитой на 26-й день после заражения. Ув. 56 раз; окраска гематоксилин-эозином.



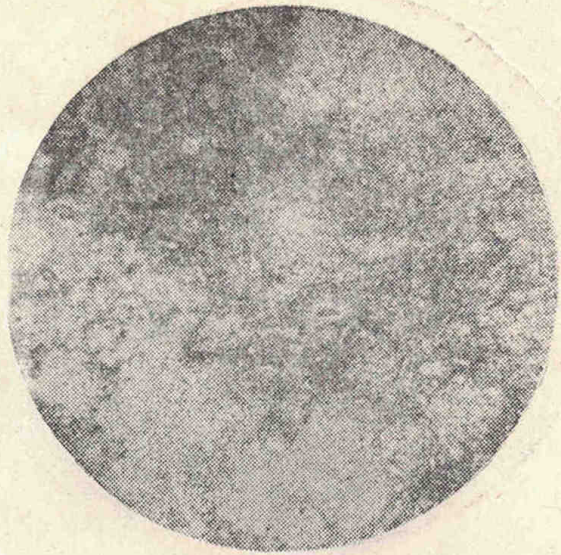
Микрофото 7. Воспалительные узелки в подвздошном лимфатическом узле у морской свинки, зараженной бруцеллезом после вакцинации культурой штамма 793 и убитой на 21-й день после заражения. Ув. 56 раз; окраска гематоксилин-пикрофуксином.



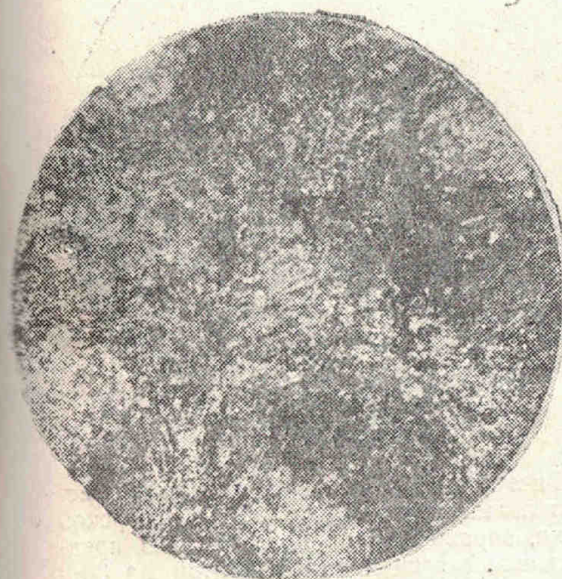
Микрофото 8. Некроз клеток элементов (кариорексис и карипикноз) центральной части воспалительного очага в подвздошном лимфатическом узле у морской свинки, зараженной бруцеллезом после вакцинации культурой штамма ВА и убитой на 31-й день после заражения. Ув. 56 раз; окраска гематоксилин-эозином.



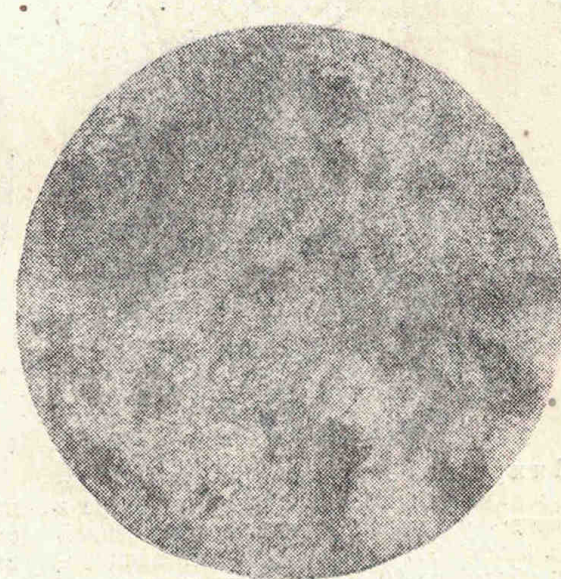
Микрофото 9. Воспалительный очажок из ретикулярных и эпителиоидных клеток с намечающимся некрозом в центре и гигантской клеткой в паховом лимфатическом узле у морской свинки, зараженной бруцеллезом после вакцинации культурой штамма ВА и убитой на 71-й день после заражения. Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-эозином.



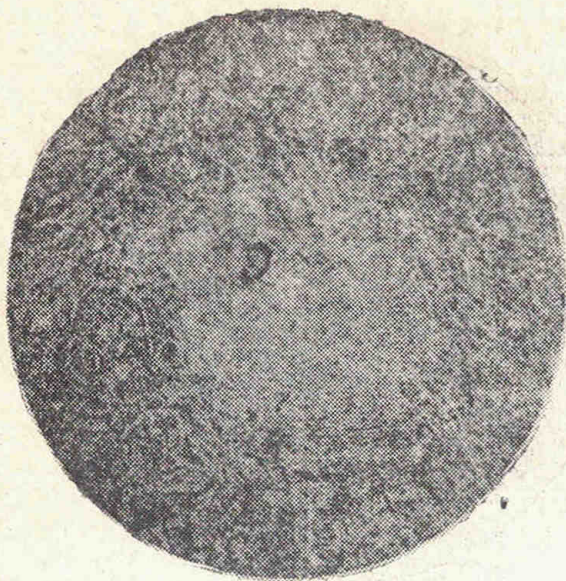
Микрофото 10. Многочисленные сливные воспалительные очажки в паховом лимфатическом узле у морской свинки, зараженной бруцеллезом после вакцинации культурой штамма ВА и убитой на 42-й день после заражения. Ув. 56 раз; окраска гематоксилин-пикрофуксином.



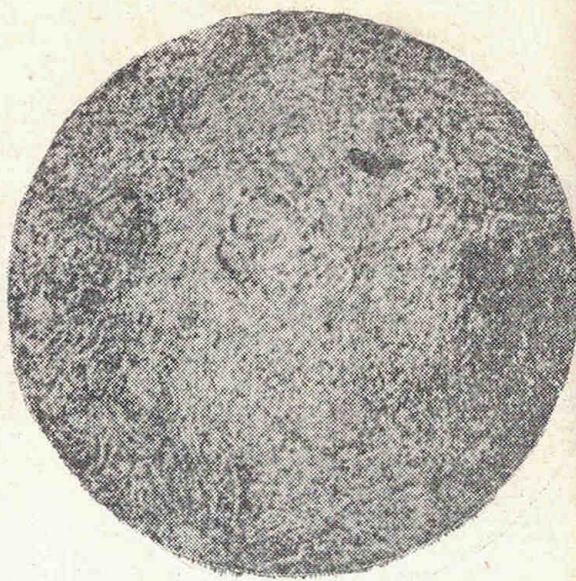
Микрофото 11. Очаговая пролиферация ретикулярных элементов в фолликулах и пульпе селезенки у морской свинки, зараженной бруцеллезом после вакцинации культурой штамма ВА и убитой на 49-й день после заражения. Ув. 56 раз; окраска гематоксилин-эозином.



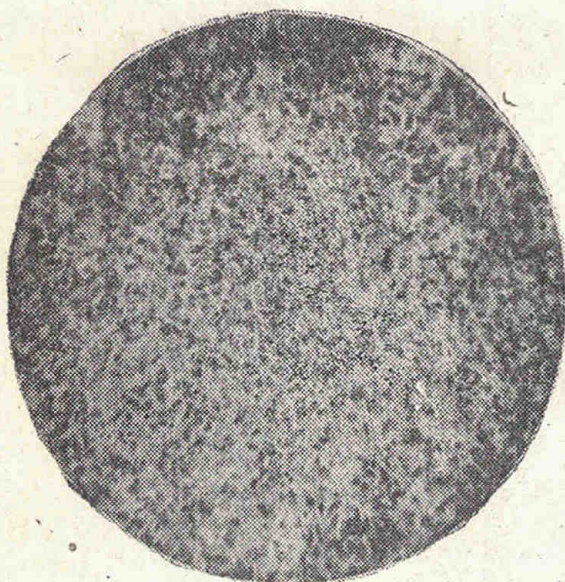
Микрофото 12. Очаговая пролиферация ретикулярных элементов в фолликулах и пульпе селезенки у морской свинки, зараженной бруцеллезом без предварительной вакцинации и убитой на 49-й день после заражения. Ув. 56 раз; окраска гематоксилин-эозином.



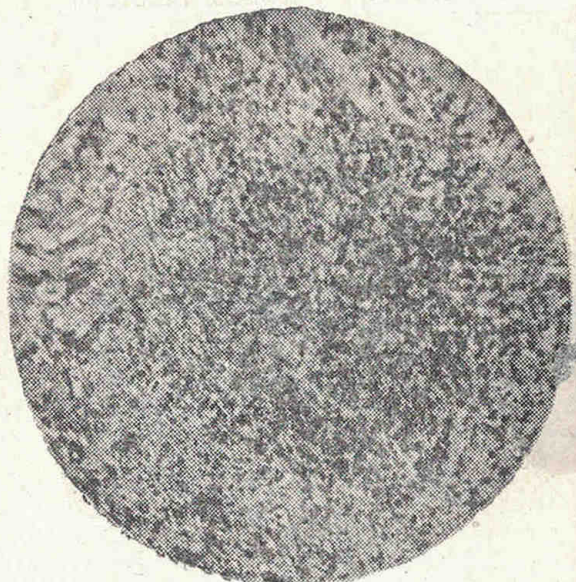
Микрофото 13. Воспалительный очажок с гигантской клеткой в селезенке у морской свинки, зараженной бруцеллезом после вакцинации культурой штамма 793 и убитой на 71-й день после заражения. Ув. 120 раз; окраска гематоксилин-эозином.



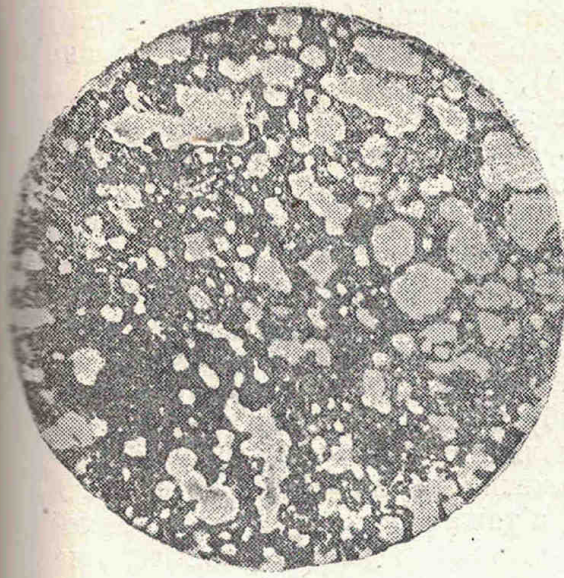
Микрофото 14. Воспалительный очажок с гигантскими клетками в селезенке у морской свинки, зараженной бруцеллезом после вакцинации культурой штамма ВА и убитой на 63-й день после заражения. Ув. 120 раз; окраска гематоксилин-эозином.



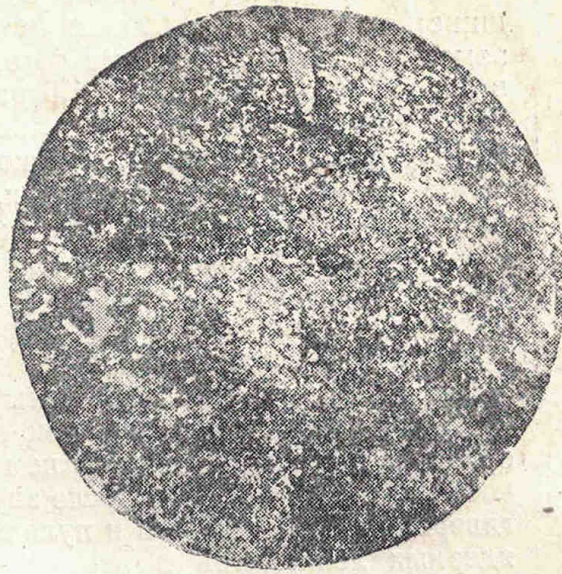
Микрофото 15. Воспалительный очажок с намечающимся некрозом в центре в селезенке у морской свинки, зараженной бруцеллезом без предварительной вакцинации и убитой на 80-й день после заражения. Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-пикрофуксином.



Микрофото 16. Некротический воспалительный очажок в селезенке у морской свинки, зараженной бруцеллезом без предварительной вакцинации и убитой на 30-й день после заражения. Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 17. Клеточная инфильтрация межальвеолярных перегородок легкого у морской свинки, зараженной бруцеллезом после вакцинации культурой штамма 793 и убитой на 63-й день после заражения. Ув. 80 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 18. Крупные сливные очаги клеточной инфильтрации в легком у морской свинки, зараженной бруцеллезом после вакцинации культурой штамма 793 и убитой на 49-й день после заражения. Ув. 56 раз; окраска гематоксилин-пикрофуксином.

телиоидных клеток; встречаются также типичные узелки (иногда довольно крупные) с наличием гигантских клеток, с некрозом и инфильтрацией полиморфноядерными лейкоцитами в центре.

Отдаленные лимфатические узлы (противоположные паховые и подмышечные) приблизительно с 25 по 70-й день после заражения представляются немного увеличенными в размере (от  $0,4 \times 0,4$  см до  $0,5 \times 0,6$  см), что отчетливее всего заметно у свинок, зараженных после вакцинации штаммом 793. Под микроскопом у вакцинированных и затем зараженных животных наряду с установленным у отдельных свинок полным отсутствием изменений у подавляющего большинства отмечается небольшая гиперплазия ткани, несколько усиливающаяся на средних сроках; кроме того, в период с 30 по 90-й день обнаруживаются более или менее отчетливо сформированные воспалительные очажки (микрофото 9), построенные из ретикулярных, эпителиоидных и гигантских клеток, иногда с некрозом в центре в форме кариорексиса. У свинок, подготовленных вакциной ВА, эти очажки встречаются заметно чаще и обычно являются более крупными и более многочисленными (микрофото 10); часто обращает на себя внимание преимущественное расположение этих очажков в мозговом веществе, которое при этом бывает более или менее гиперемированным.

У животных, зараженных без предварительной вакцинации, гиперплазия ткани представляется более отчетливой и, начиная с 26-х суток, сочетается с очаговой пролиферацией ретикулярных и эпителиоидных клеток, а также с наличием в ткани относительно часто встречающихся гранулом, содержащих гигантские клетки и некротический центр.



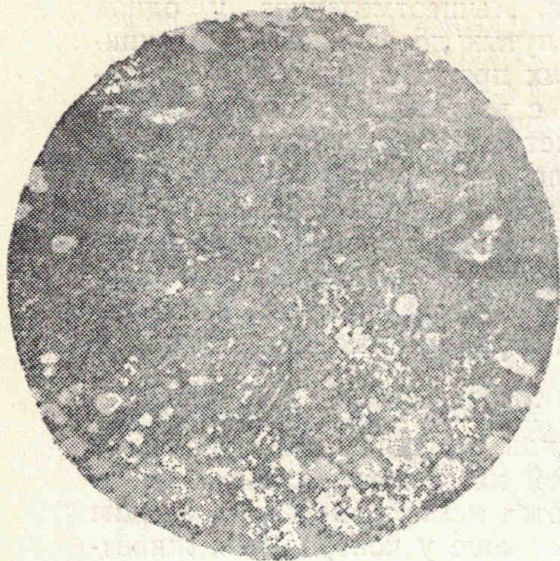
Селезенка, начиная с 10 дня после заражения, у большинства животных выглядит немного, а затем (с 30 по 90-е сутки) заметно припухшей; кроме того, наблюдается увеличение органа в объеме (не более чем в 1,5 раза), некоторая дряблость его, а также набухший вид фолликулов и наличие в нем у некоторых животных мелких беловатых узелков. Все эти изменения наиболее заметно представлены у животных, зараженных без предшествующей иммунизации, а также у животных зараженных после иммунизации вакциной ВА, причем у последних эти изменения как будто даже иногда несколько больше, чем у первых; в частности, у них бывают более многочисленны обнаруживаемые в органе узелки. Наоборот, у животных, зараженных после иммунизации штаммом 793, вышеуказанные изменения выражены в наименьшей степени; например, у них не установлено сколько-нибудь значительного увеличения органа в объеме, а узелки в нем являются единичными. Гистологически на первых сроках после заражения (до 20-го дня) отмечается гиперплазия фолликулов и пульпы, а также скопление полиморфноядерных лейкоцитов в венозных синусах и явления миелоэоза; на дальнейших сроках гиперплазия представляется более или менее отчетливой, причем наблюдается мелкоочаговая пролиферация клеток как в пульпе, так и внутри фолликулов (микрофото 11 и 12); встречаются также воспалительные очажки из ретикулярных, эпителиоидных и гигантских клеток (микрофото 13 и 14). Подобные очажки в группе животных, зараженных после вакцинации штаммом 793, обнаружены у 1 свинки из 21; у зараженных после вакцинации штаммом ВА — у 6 из 21, причем здесь они иногда достигают крупной величины, а у двух свинок в центре гранулом имеет место отчетливо выраженный некроз в форме кариорексиса. В контрольной группе животных такого же типа узелки обнаружены у 5 свинок из 14, как правило, с некрозом в центре (микрофото 15) и иногда с инфильтрацией здесь полиморфноядерными лейкоцитами; наряду с отмеченными узелками у этих животных в пульпе встречаются очажки типа простого некроза ткани (микрофото 16).

Легкие, как правило, содержат периферически расположенные мелкие сероватые или красноватые очажки, которые у всех вакцинированных, а затем зараженных животных обнаруживаются после 20-го дня с момента заражения приблизительно с одинаковой частотой в той и другой группе или как будто немного чаще у животных, вакцинированных штаммом ВА, из которых у одной свинки в легких отмечены подозрительные в смысле пневмонии плотные участки. В контрольной группе животных вышеуказанные очажки довольно закономерно обнаруживаются, начиная с 10-х суток после заражения, и у некоторых свинок бывают более или менее многочисленны. При гистологическом исследовании весьма постоянно, притом во всех трех группах животных, отмечается инфильтрация межальвеолярных перегородок (микрофото 17) гистиоцитами, лимфоцитами, эпителиоидными клетками, а также немногочисленными эозинофилами и гиалинизированными клетками. Эта инфильтрация преобладает в краевых отделах легких, а также по ходу кровеносных сосудов и бронхов; нередко она приобретает характер более или менее четко сформированных и иногда довольно крупных очагов (микрофото 18 и 19), обнаруживаемых, как правило, у предва-

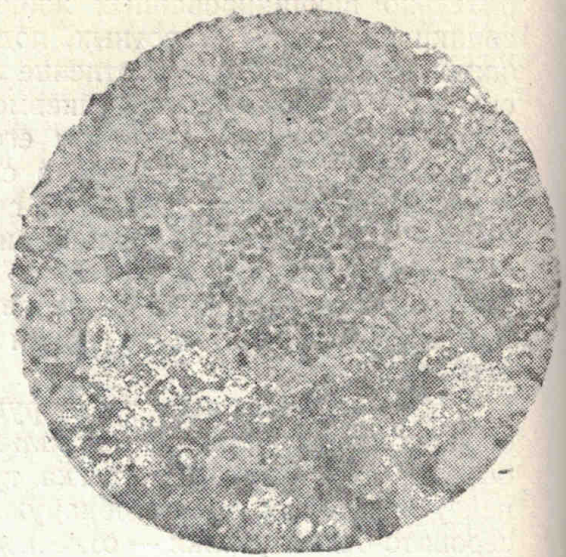
рительно вакцинированных животных. Вышеотмеченное у одной свинки из группы животных, подвергнутых до заражения иммунизации вакциной ВА, уплотнение легких представляется под микроскопом в форме очаговой пневмонии с катарально-гнойным экссудатом в альвеолах, некрозом его клеточных элементов, наличием в альвеолах подозрительной в смысле бруцелл мельчайшей базофильной зернистости, обильной серозной экссудацией на периферии очагов и отсутствием сколько-нибудь заметного поражения бронхов. У контрольных животных в отличие от предварительно вакцинированных преобладает неравномерно распространенная клеточная инфильтрация, в то время как ограниченные очаги почти не встречаются.

Печень во всех трех группах животных при вскрытии последних представляется нормальной или несколько увеличенной в объеме, дрябловатой и слегка тусклой на разрезе; кроме того, в ней у некоторых свинок обнаруживаются немногочисленные мелкие серовато-белые узелки — относительно чаще у контрольных животных, реже у зараженных после иммунизации вакциной ВА и еще реже у зараженных после иммунизации штаммом 793. Под микроскопом как более или менее постоянное явление отмечается слабо выраженная зернисто-жировая дистрофия клеток паренхимы и диффузная гиперплазия ретикуло-эндотелиальных элементов, а также очаговая пролиферация последних (микрофото 20 и 21), обычно преобладающая близ кровеносных сосудов; вместе с тем у некоторых свинок встречаются, чаще располагающиеся около кровеносных сосудов, продуктивные воспалительные очажки, построенные из эпителиоидных клеток, гистиоцитов и звездчатых элементов (микрофото 22). Очажки этого типа чаще обнаруживаются у контрольных животных и животных, предварительно иммунизированных вакциной ВА; у последних они иногда бывают также более или менее крупными и приобретают характер гранулом (микрофото 23) с некрозом и лейкоцитарной инфильтрацией в центре и фиброзным превращением на периферии; наконец, в этой группе животных, и реже у животных, предварительно иммунизированных штаммом 793, попадаются иногда очажки (микрофото 24), построенные по типу некробиоза паренхимы в форме более или менее отчетливого кардио- и плазмолита с преимущественно краевой пролиферацией здесь звездчатых и эпителиоидных клеток.

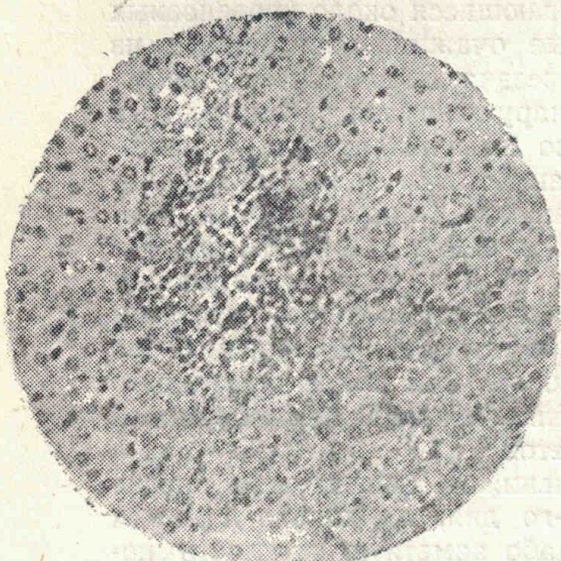
Почки на вид отчетливых изменений не имеют; лишь иногда здесь, начиная приблизительно с 21-го дня, одинаково для всех групп животных можно наблюдать слабо заметную тусклость поверхности разреза органа и недостаточно четкое разграничение его паренхимы на корковый слой и мозговой. Гистологически изменения либо вообще отсутствуют, в том числе и у контрольных животных, либо имеет место слабо выраженная зернистая дистрофия эпителия извитых канальцев и небольшая очаговая мелкоклеточная инфильтрация межклеточной ткани, как правило, преобладающая близ сосудов и клубочков; у предварительно вакцинированных животных (независимо от примененного для этой цели штамма) указанная инфильтрация наблюдается начиная с самых ранних сроков и установлена у 4—5 свинок в каждой группе; у контрольных животных подобная инфильтрация отмечена только у одной свинки — на 30-й день после заражения.



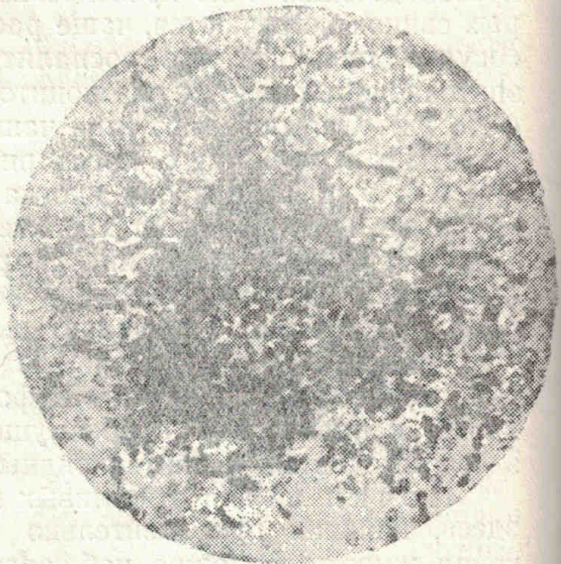
Микрофото 19. Крупный очаг клеточной инфильтрации в легком у морской свинки, зараженной бруцеллезом после вакцинации культурой штамма ВА и убитой на 49-й день после заражения. Ув. 56 раз; окраска гематоксилин-пикрофуксином.



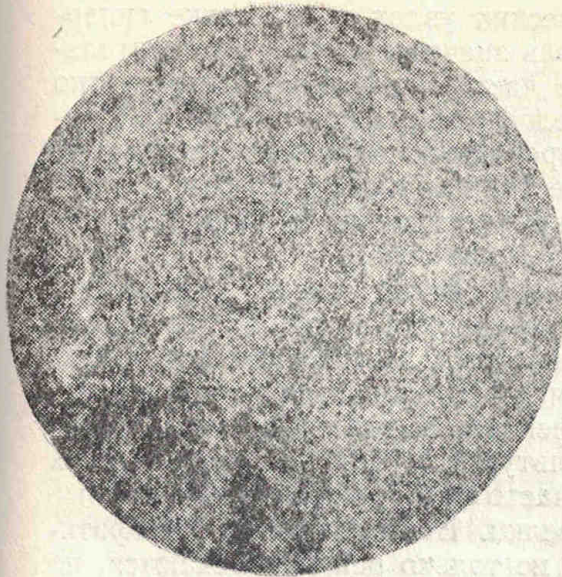
Микрофото 20. Очажок пролиферации ретикуло-эндотелиальных элементов в печени морской свинки, зараженной бруцеллезом после вакцинации культурой штамма 793 и убитой на 21-й день после заражения. Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-эозином.



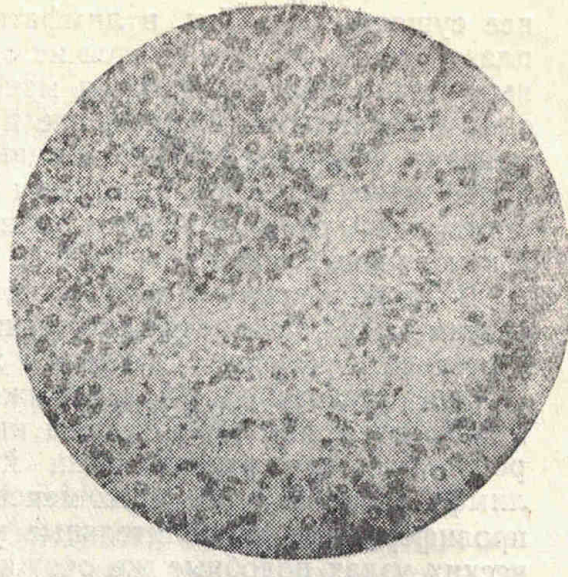
Микрофото 21. Очаг пролиферации ретикуло-эндотелиальных элементов в печени морской свинки, зараженной бруцеллезом после вакцинации культурой штамма ВА и убитой на 21-й день после заражения. Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 22. Воспалительный очажок в печени морской свинки, зараженной бруцеллезом без предварительной вакцинации и убитой на 42-й день после заражения. Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-пикрофуксином.



Микрофото 23. Сливные воспалительные очаги в печени типа гранулом у морской свинки, зараженной бруцеллезом после вакцинации культурой штамма ВА и убитой на 49-й день после заражения. Ув. 120 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 24. Некробиотический очажок в печени морской свинки, зараженной бруцеллезом после вакцинации культурой штамма ВА и убитой на 31-й день после заражения. Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-пикрофуксином.

Надпочечники, не имеющие видимых изменений при вскрытии животных, гистологически у некоторых свинок обнаруживают небольшую или умеренно выраженную гиперплазию ретикуло-эндотелиальных элементов мозгового и иногда коркового вещества, что наиболее отчетливо представлено у контрольных животных и животных, иммунизированных до заражения вакциной ВА.

Миокард при вскрытии животных также никаких особенностей не представляет; под микроскопом здесь изменения либо вообще отсутствуют, либо отмечается неясность исчерченности мышечных волокон, чаще как будто у контрольных животных; в группе животных, предварительно вакцинированных штаммом 793, кроме того, у двух свинок установлена преобладающая близ кровеносных сосудов слабо выраженная межучочная мелкоклеточная инфильтрация.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенные экспериментальные данные показывают, что у морских свинок, зараженных подкожно бруцеллезом после предшествующей вакцинации их однократным подкожным введением ослабленной культуры бруцелл, независимо от примененного для этой цели штамма, патоморфологическая картина развивающейся в результате этого инфекции соответствует в общих чертах типичному бруцеллезу. Об этом свидетельствует распространенная гиперплазия ретикуло-эндотелия с очаговой пролиферацией его элементов, иногда приобретающей характер гранулом. Вместе с тем патоморфологические признаки развивающейся у этих животных инфекции в сравнении с таковыми у контрольных животных, как правило, ме-

нее существенны. Так, в лимфатических узлах и селезенке гиперплазия ткани представляется не столь значительной, а воспалительные узелки обнаруживаются менее часто и выглядят менее четко сформированными. Исключение представляет лишь печень, где изменения у предварительно вакцинированных животных иногда как будто даже, наоборот, выражены резче, чем у контрольных; в частности, здесь следует указать на некробиотические очажки, которые у контрольных животных вообще не обнаружены.<sup>1</sup>

В свою очередь у животных, зараженных после вакцинации штаммом 793, патоморфологические изменения по степени своей выраженности уступают таковым у животных, зараженных после вакцинации культурой ВА, приближаясь у большинства свинок к патоморфологическим проявлениям инфекции, вызываемой самой употребленной для иммунизации культурой.<sup>2</sup> Так, в регионарных лимфатических узлах у них менее часто обнаруживаются клеточные пролифераты и воспалительные узелки. В подвздошных лимфатических узлах подобные же очажки не только реже встречаются, но отличаются меньшей величиной и менее отчетливым некрозом в центре. В отдаленных лимфатических узлах воспалительные очажки также менее многочисленны, обнаруживаются значительно реже и имеют относительно меньшую величину. Обращает на себя внимание весьма редкое в сравнении с животными, зараженными после вакцинации штаммом ВА, обнаружение узелков в селезенке. В печени продуктивные воспалительные очажки встречаются реже, чем у животных второй группы, и ни у одной свинки не приближаются по виду к типичной грануломе. Кроме того, здесь реже встречаются обнаруживаемые в той и другой группе животных некробиотические очажки. Установленная у двух свинок слабо выраженная межуточная инфильтрация в миокарде, равно как наблюдающаяся уже на ранних сроках в обеих группах животных межуточная инфильтрация в почках, не превышает таковой при самом иммунизаторном процессе и, возможно, отчасти связана с ним.

Таким образом, патоморфологическая картина бруцеллеза у ранее вакцинированных против него морских свинок, а также данные бактериологического исследования их органов в общем свидетельствуют о наличии у этих животных к бруцеллезной инфекции относительной невосприимчивости, притом более высокой от применения для вакцинации штамма 793.

---

<sup>1</sup> Этот вопрос остается неясным и для своего разрешения требует дальнейших наблюдений.

<sup>2</sup> Р. С. Колесник, Н. Д. Алтарева и А. Ф. Пинигин. Патоморфологическая и бактериологическая характеристика вызываемого бруцеллезным штаммом 793 инфекционного процесса. См. настоящий сборник.

Р. С. Колесник, Н. Д. Алтарева

### ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ О ПАТОГЕННЫХ СВОЙСТВАХ БРУЦЕЛЛЕЗНОГО ШТАММА 793 ПРИ ЕГО НАКОЖНОМ ПРИМЕНЕНИИ

Целью настоящего исследования ставилось выяснить патогенные свойства бруцеллезного штамма 793<sup>1</sup> при накожном его применении в небольших и средних дозировках.

Работа выполнена на 120 морских свинок, разделенных поровну на 2 группы:

- 1) животные (60 свинок), зараженные штаммом 793;
- 2) животные (60 свинок), зараженные штаммом ВА (контроль).

В той и другой группе заражение животных производилось на кожно<sup>2</sup> двумя разными дозами штаммов:

- 1) большой (10 млрд. микробов в 1 мл физиологического раствора) — по 37 свинок на каждый штамм;
- 2) малой (1 млрд. микробов в 1 мл физиологического раствора) — по 23 свинки на каждый штамм.

На различных сроках после заражения (1, 2, 3, 4, 6, 9, 12 и 13½ месяцев, а для большой дозы еще дополнительно 3, 5, 7, 10, 15, 20 и 25 дней) животные убивались хлороформом по 2—4 свинки на срок и немедленно вскрывались.

При вскрытии производился посев из органов на бруцеллы.<sup>3</sup> Для исследования (гистологического и бактериологического) брались кожа с подлежащими мягкими тканями из места нанесения культуры, регионарные (правые паховые), подвздошные и отдаленные лимфатические узлы, селезенка, легкие, печень, почки, надпочечники, миокард, головной и костный мозг. Взятый для гистологического исследования материал фиксировался в 12% формалине, спирте и жидкости Орта и заливался в целлоидин. Срезы толщиной в 6 микрон красились гематоксилин-эозином и гематоксилин-пикрофуксином.

<sup>1</sup> См. наши предыдущие сообщения в настоящем сборнике.

<sup>2</sup> На скарифицированную кожу внутренней поверхности правого бедра наносилась 1 капля микробной эмульсии из двухсуточной агаровой культуры, после чего это место тщательно просушивалось на воздухе.

<sup>3</sup> Путем прямых посевов было исследовано 85 убитых на разных сроках морских свинок (39 — из числа зараженных штаммом 793 и 46 — из числа зараженных штаммом ВА); бактериологическое исследование остальных животных, в том числе и некоторых павших по ходу опыта, не проводилось по техническим причинам.

Таблица 1

## Высеваемость бруцелл от зараженных морских свинок

Штамм	Количество свинок с положительным высеваем	Характер инфекции	Степень заселения органов	Сроки в крыгги и результаты бактериологического исследования															
				3-4	6-10	15	20	25	1	2	12	13,5							
ВА	8	Доза в 10 млрд	регионарная . . . . .		++														
			железистая . . . . .	+++															
			генерализованная . . . . .																
793	12	Доза в 1 млрд	регионарная . . . . .			++													
			железистая . . . . .			++													
			генерализованная . . . . .			++													
ВА	3	Доза в 1 млрд	регионарная . . . . .																
			железистая . . . . .																
			генерализованная . . . . .																
793	2	Доза в 1 млрд	регионарная . . . . .																
			железистая . . . . .																
			генерализованная . . . . .																

Обозначения: + от 1 до 10 колоний;  
 ++ от 10 до 20 колоний;  
 +++ 20 колоний и больше;  
 ++++ сплошной рост.

Примечание: Расположение знака + в 1-2-3 строки соответствует количеству животных с положительными высевами.

В той и другой группе имел место падеж животных<sup>1</sup>; при этом в группе зараженных культурой штамма 793 пало на разных сроках (9 дней, 3, 5, 6, 7, 8 и 12 месяцев) 12 свинок (8 — зараженных большой дозой и 4 — малой дозой); в группе зараженных культурой штамма ВА пало на этих же сроках 6 свинок (по 3 на каждую дозу). Из общего количества павших животных (18 свинок) бактериологическому<sup>2</sup> и гистологическому исследованию подвергнуто 14 свинок.<sup>3</sup>

Произведенные бактериологические наблюдения (табл. 1, 2 и 3) показывают, что уже довольно рано (через 3—4 дня) бруцеллы того и другого штамма содержатся в лимфатических узлах и внутренних органах. При этом у животных, зараженных штаммом 793, микробы высеваются в большем количестве, чем у животных, зараженных штаммом ВА.<sup>4</sup> У тех и других выделение бруцелл из органов заканчивается в общем через 1—2 месяца; однако у животных, зараженных штаммом ВА, оно иногда имеет место и на весьма отдаленных сроках (12—13,5 месяца).

У животных, павших на различных сроках по ходу опыта (см. выше), культура бруцелл из органов не выделена; лишь у одной свинки, зараженной штаммом 793 и погибшей на 9-й день вскоре после родов, получена бруцеллезная культура из регионарного лимфатического узла (регионарная инфекция).

### Патоморфологические данные

#### I

У животных, зараженных большой дозой, при вскрытии их в месте нанесения культуры обнаруживаются (до 7—10-го дня) сухие желтовато-бурые или коричневатые корочки, вначале довольно крупные (1—1,5 см), а затем небольшие (0,3—0,5 см); иногда это сопровождается гиперемией подкожной жировой клетчатки; у некоторых животных в месте бывших насечек встречаются не покрытые корочками мелкие красноватые ссадины; на всех последующих сроках видимые изменения в месте заражения вообще отсутствуют.

Гистологически у тех и других животных, начиная с самых ранних сроков, отмечается более или менее отчетливая диффузная или очаговая инфильтрация дермы и соединительнотканых прослоек подкожной жировой клетчатки (микрофото 1 и 2) лимфоцитами, гистиоцитами и эпителиоидными клетками с той или иной примесью полиморфноядерных лейкоцитов, что обычно сочетается с наличием на поверхности эпидермиса более или менее значительных наслоений из однородной оксифильной массы и претерпевающих распад клеточных элементов (лимфоциты и полиморфноядерные лейкоциты); указанная инфильтрация, как правило, преобла-

<sup>1</sup> Как показывает исследование материала (см. ниже), гибель этих животных наступила не от бруцеллеза, а от других причин.

<sup>2</sup> На бруцеллы.

<sup>3</sup> Остальные животные не исследовались по техническим причинам.

<sup>4</sup> Это совпадает с ранее установленным нами фактом более интенсивного заселения органов бруцеллами у животных, зараженных штаммом 793 подкожно, чем у животных, зараженных подкожно штаммом ВА (см. первое наше сообщение в настоящем сборнике).



Таблица 2

## Высеваемость бруцелл от морских свинок, зараженных 10-миллиардной взвесью

Штамм	Количество морских свинок	Сроки вскрытия и результаты бактериологического исследования										
		в днях				в месяцах						
		3-4	6-10	15	20	25	1	2	3	6	12	13,5
ВА	28	$\frac{4}{1}$	$\frac{4}{1}$	$\frac{2}{0}$	$\frac{2}{2}$	$\frac{2}{1}$	$\frac{2}{0}$	$\frac{2}{2}$	$\frac{2}{0}$	$\frac{2}{0}$	$\frac{4}{1}$	$\frac{2}{0}$
793	25	$\frac{4}{4}$	$\frac{4}{2}$	$\frac{2}{2}$	$\frac{2}{2}$	$\frac{2}{1}$	$\frac{2}{1}$	$\frac{2}{0}$	$\frac{2}{0}$	$\frac{2}{0}$	$\frac{1}{0}$	$\frac{2}{0}$

Примечание: Числитель — количество исследованных свинок; знаменатель — число свинок, давших положительный результат высева.

Таблица 3

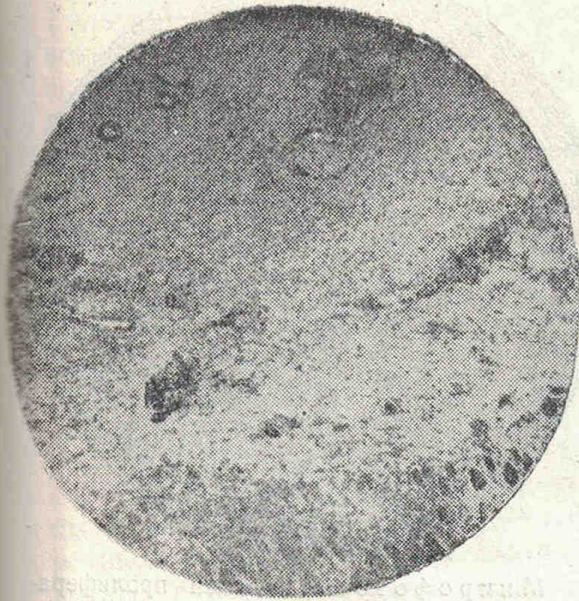
## Высеваемость бруцелл от морских свинок, зараженных 1-миллиардной взвесью

Штамм	Количество морских свинок	Сроки вскрытия и результат бактериологического исследования					
		в месяцах					
		1	2	3	6	12	13,5
ВА	15	$\frac{2}{1}$	$\frac{2}{1}$	$\frac{2}{0}$	$\frac{2}{0}$	$\frac{4}{0}$	$\frac{3}{1}$
793	14	$\frac{2}{1}$	$\frac{2}{1}$	$\frac{2}{0}$	$\frac{2}{0}$	$\frac{4}{0}$	$\frac{2}{0}$

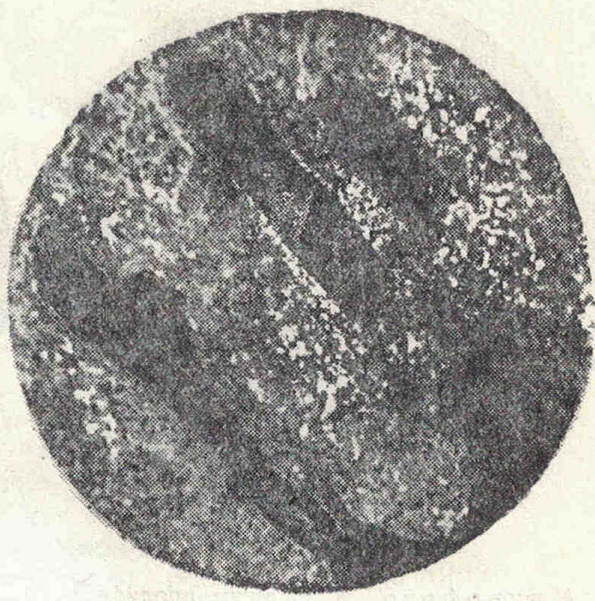
Примечание: Числитель — количество исследованных свинок; знаменатель — число свинок, давших положительный результат высева.

дает близ кровеносных сосудов, у которых при этом нередко представляется набухшим эндотелий; иногда на ранних сроках (5-й день) на фоне подобной клеточной инфильтрации у животных, зараженных культурой штамма ВА, обнаруживаются воспалительные узелки типа гранулом, построенные из гистиоцитов, эпителиоидных клеток, лимфоцитов, эозинофилов и немногочисленных плазматических клеток, с некрозом в центре в форме кариорексиса.

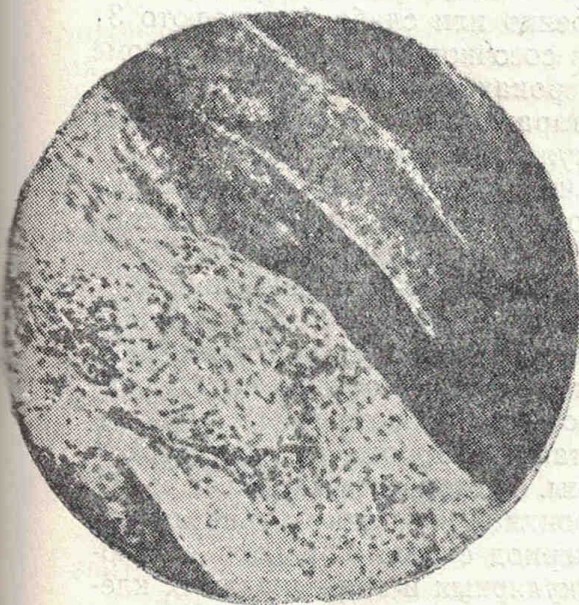
С течением времени среди клеточных элементов инфильтрации отмечается все более четко выраженное количественное преобладание гистиоцитов, лимфоцитов, эпителиоидных клеток, наконец фибробластов и звездчатых элементов, в то время как полиморфноядерных лейкоцитов становится все меньше и меньше; иногда указанные крупноклеточные элементы располагаются преимущественно на периферии лимфоцитарных очажков, или же заполняют в виде тяжей промежутки между последними. На средних и отдаленных сроках среди прочих клеточных элементов инфильтрации отмечается довольно значительная примесь эозинофилов и немногочисленных плазматических клеток.



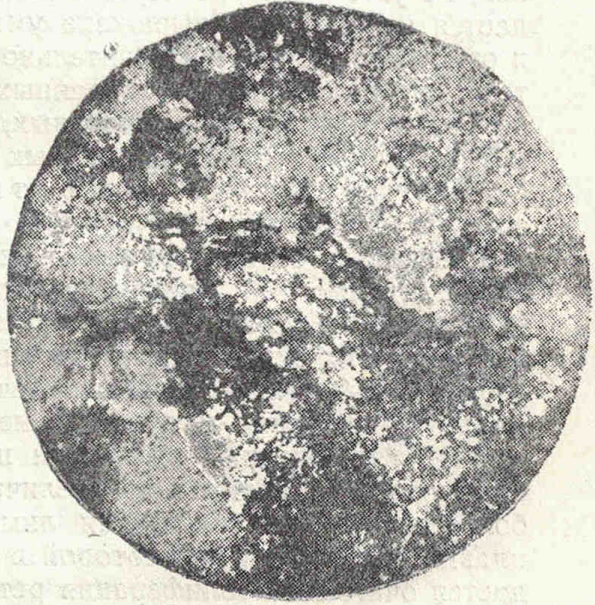
Микрофото 1. Клеточная инфильтрация дермы и подкожной клетчатки (преобладающая близ сосудов) в месте нанесения культуры у морской свинки, зараженной большой дозой штамма 793 (убита на 5-й день). Ув. 40 раз; окраска гематоксилин-эозином.



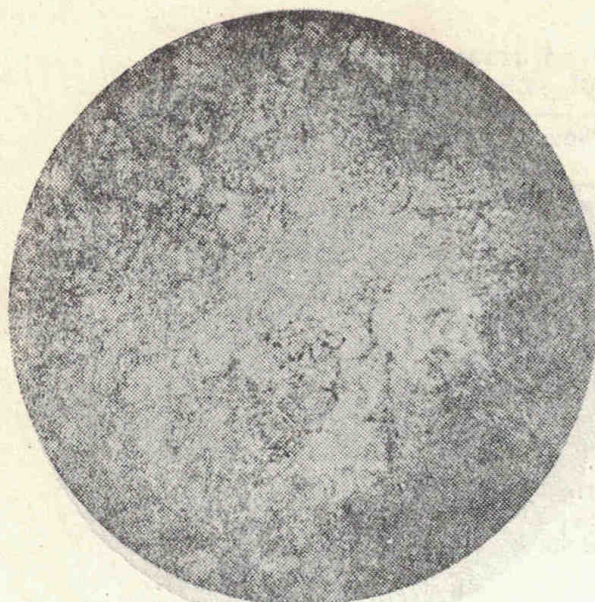
Микрофото 2. Диффузная клеточная инфильтрация соединительно-тканного слоя кожи в месте нанесения культуры у морской свинки, зараженной большой дозой штамма ВА (убита на 15-й день). Ув. 80 раз; окраска гематоксилин-эозином.



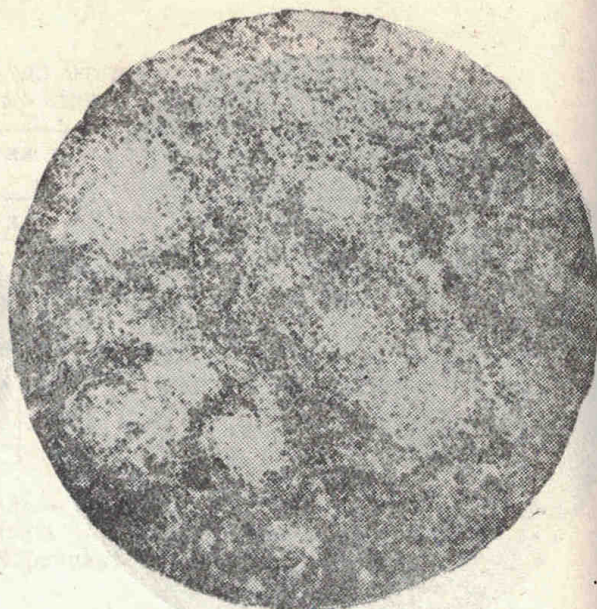
Микрофото 3. Клеточная инфильтрация сосочкового слоя дермы на отдаленном сроке у морской свинки, зараженной большой дозой штамма 793 (убита через 6 месяцев). Ув. 160 раз, окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 4. Очаги пролиферации ретикулярных и эпителиоидных клеток в регионарном лимфатическом узле у морской свинки, зараженной большой дозой штамма 793 (убита на 20-й день). Ув. 80 раз; окраска гематоксилин-пикрофуксином.



Микрофото 5. Очажки пролиферации ретикулярных и эпителиоидных клеток в регионарном лимфатическом узле у морской свинки, зараженной большой дозой штамма ВА (убита на 20-й день). Ув. 40 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 6. Очажки пролиферации ретикулярных и эпителиоидных клеток в подвздошном лимфатическом узле у морской свинки, зараженной большой дозой штамма 793 (убита на 10-й день). Ув. 160 раз; окраска гематоксилин-эозином.

Описанная воспалительная инфильтрация у тех и других животных удерживается довольно стойко до самых отдаленных сроков, но уже примерно через 3 месяца после заражения она наблюдается непостоянно, выражена умеренно или слабо (микрофото 3) и отмечается почти исключительно в сосочковом слое дермы; кроме того, она на средних и отдаленных сроках представляется несколько более отчетливой у животных, зараженных культурой штамма ВА, чем у животных, зараженных культурой штамма 793.

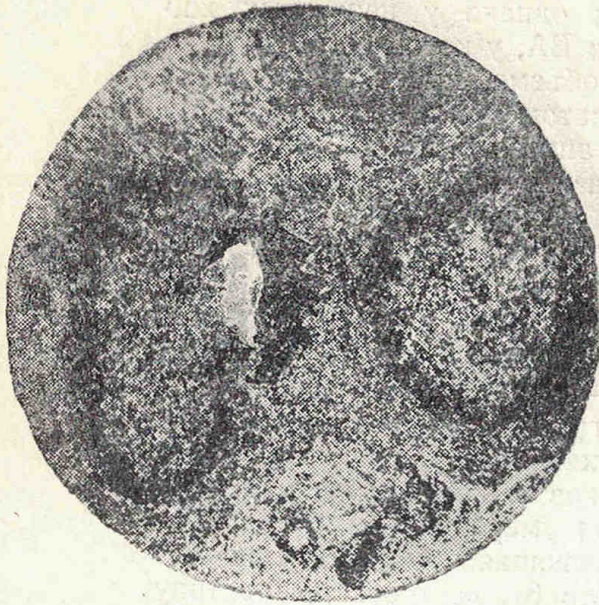
Регионарные лимфатические узлы умеренно или заметно увеличиваются в размере (от  $0,4 \times 0,4$  см до  $0,6 \times 0,7$  см), что несколько отчетливее выражено у животных, зараженных культурой штамма 793; увеличение это представляется наибольшим в период с 5 по 20-й день, после чего объем лимфатических узлов у тех и других животных постепенно уменьшается; на отдаленных сроках (4—9—12 месяцев) лимфатические узлы обычно имеют нормальную величину, и лишь у некоторых животных (3 морские свинки), зараженных культурой штамма ВА, они на этих сроках еще довольно значительно увеличены. Гистологически имеет место более или менее отчетливая лимфоидная и ретикулярная гиперплазия ткани, на фоне которой в период с 7 по 60-й день наблюдается очаговая пролиферация ретикулярных и эпителиоидных клеток (микрофото 4 и 5), иногда с признаками фиброзного превращения очажков; указанная пролиферация клеточных элементов более постоянно отмечается у животных, зараженных культурой штамма 793. На отдаленных сроках у тех и других животных изменения в общем ограничиваются умеренной или небольшой лимфоидной и ретикулярной гиперплазией ткани, сочетающейся с обильной ин-

филтрацией последней эозинофилами; однако у некоторых животных из группы зараженных штаммом ВА, у которых лимфатические узлы еще заметно увеличены в объеме, имеет место также диффузная инфильтрация ткани с захватом капсулы узла и окружающей его клетчатки гистиоцитами, эпителиоидными, плазматическими и многоядерными гигантскими клетками с образованием здесь специфических воспалительных узелков, претерпевающих некроз (кариорексис) в центре и (иногда) слабо выраженное фиброзное превращение на периферии.

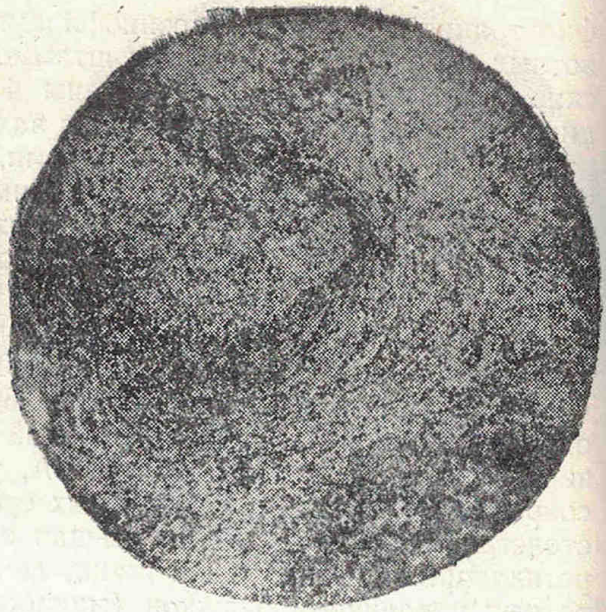
Подвздошные лимфатические узлы также умеренно увеличиваются в размере (от  $0,3 \times 0,5$  см до  $0,5 \times 0,6$  см), что наблюдается в среднем с 5 по 60-й день, причем примерно с одинаковой частотой в той и другой группе животных; у свинок, зараженных культурой штамма ВА, указанное увеличение иногда сохраняется до весьма отдаленных сроков (6—9—12 месяцев). Гистологически отмечается небольшая или умеренная лимфоидная и ретикулярная гиперплазия ткани, сочетающаяся у некоторых животных с наличием очажков (микрофото 6), построенных по типу пролиферации ретикулярных, эпителиоидных и иногда многоядерных гигантских клеток; указанные очажки образуются в среднем с 10 по 30-й день, при том обычно у животных, зараженных культурой штамма 793; у животных, зараженных штаммом ВА, подобные узелки обнаруживаются на отдаленных сроках (6—9—12 месяцев), причем, как правило, с многоядерными гигантскими клетками и нередко с явлениями фиброзного превращения; независимо от примененного штамма отмечается также на отдаленных сроках обильная инфильтрация ткани эозинофилами.

Отдаленные лимфатические узлы (противоположные паховые и подмышечные) выглядят немного увеличенными (от  $0,3 \times 0,4$  см до  $0,4 \times 0,5$  см); увеличение это наблюдается в период от 7 дня до 3—6 месяцев, однако у животных, зараженных культурой штамма ВА, оно иногда имеет место и на более отдаленных сроках (9—12 месяцев) и представляется при этом довольно значительным (от  $0,6 \times 0,7$  см до  $0,7 \times 1,0$  см). Гистологически отмечается лимфоидная и ретикулярная гиперплазия ткани, вначале (до 3 месяцев) умеренная, а затем небольшая, а также обильная инфильтрация последней эозинофилами (средние и отдаленные сроки); кроме того, у животных, зараженных культурой штамма ВА, на отдаленных сроках (6—9—12 месяцев) иногда встречаются очажки пролиферации ретикулярных клеток и воспалительные узелки, построенные из гистиоцитов, эпителиоидных и многоядерных гигантских клеток с некрозом в центре (кариорексис) и с явлениями фиброзного превращения на периферии; у этих же животных иногда наблюдается диффузная инфильтрация ткани эпителиоидными, многоядерными гигантскими и плазматическими клетками; встречаются здесь также небольшие кровоизлияния.

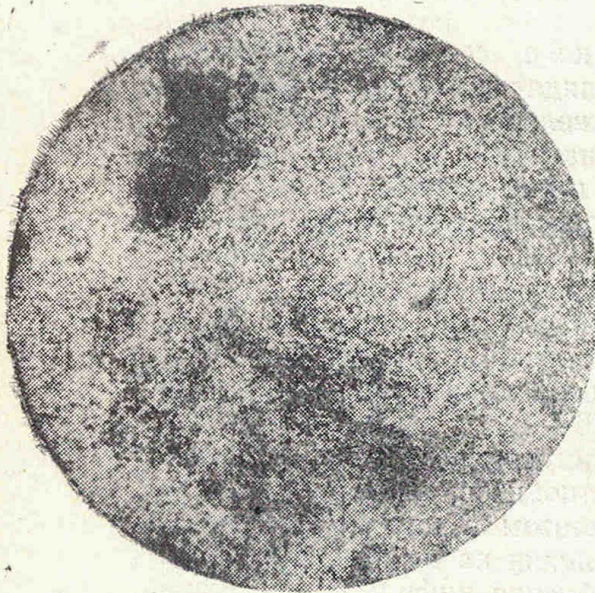
Селезенка на ранних и средних сроках (до 3—4 месяцев) представляется немного или заметно (с 30-го дня) припухшей; вместе с тем наблюдается увеличение в размере ее фолликулов, что более постоянно бывает у животных, зараженных культурой штамма ВА. На отдаленных сроках селезенка имеет обычную величину, но у некоторых животных (3 свинки), зараженных культурой



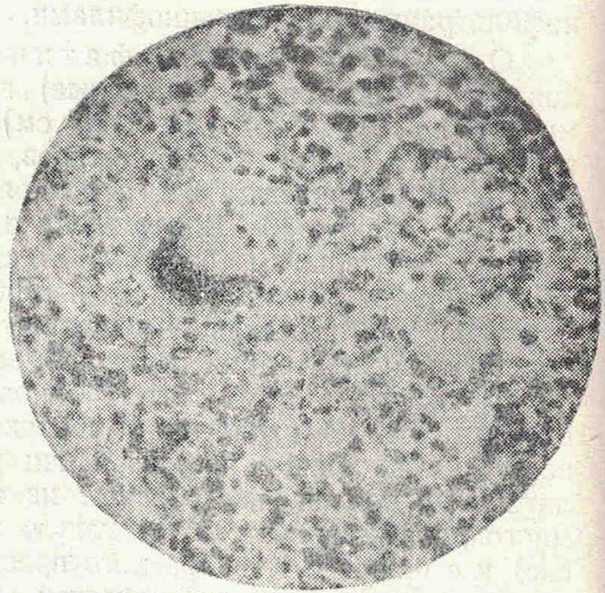
Микрофото 7. Гиперплазия фолликулов пульпы в селезенке у морской свинки, зараженной большой дозой штамма 793 (убита через 3 месяца). Ув. 80 раз; окраска гематоксилин-эозином.



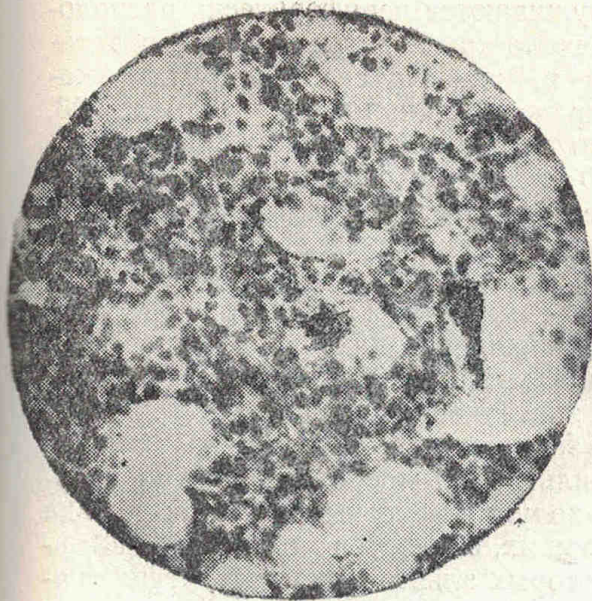
Микрофото 8. Гиперплазия фолликулов и пульпы в селезенке у морской свинки, зараженной большой дозой штамма ВА (убита на 30-й день). Ув. 80 раз; окраска гематоксилин-эозином.



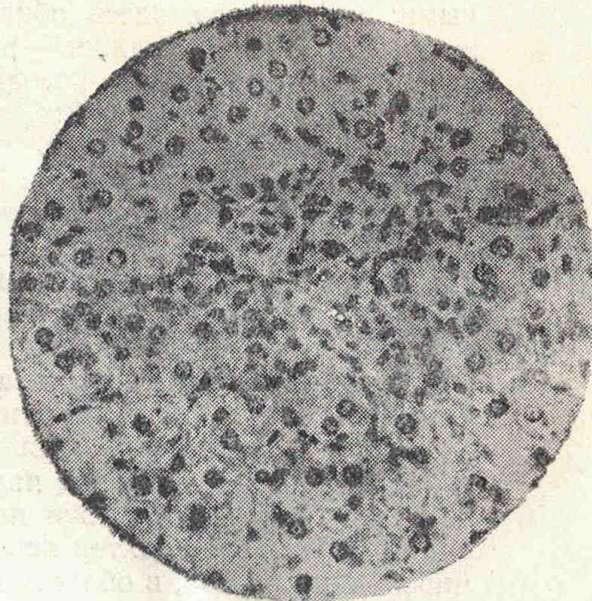
Микрофото 9. Сливные воспалительные очажки (в одном из них — многоядерная гигантская клетка) в селезенке у морской свинки, зараженной большой дозой штамма ВА (убита через 9 месяцев). Ув. 80 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 10. Многоядерные гигантские клетки в воспалительном очажке селезенки у морской свинки, зараженной большой дозой штамма ВА (см. выше). Ув. 320 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 11. Клеточная инфильтрация межальвеолярных перегородок в легком у морской свинки, зараженной большой дозой штамма ВА (убита на 25-й день). Ув. 320 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 12. Очажок пролиферации звездчатых клеток в печени у морской свинки, зараженной большой дозой штамма 793 (убита через 2 месяца). Ув. 320 раз; окраска гематоксилин-эозином.

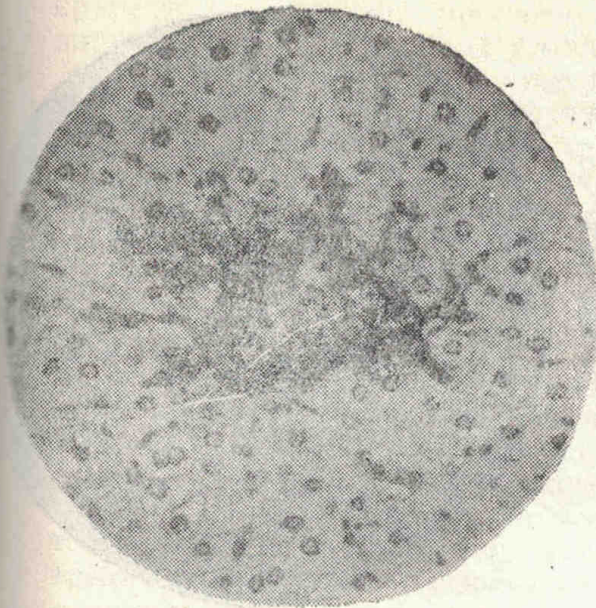
штамма ВА и убитых через 9 и 12 месяцев, она еще довольно сильно увеличена и, кроме того, пронизана единичными или многочисленными беловатыми узелками. Гистологически на ранних и средних сроках после заражения отмечается гиперемия и более или менее отчетливая гиперплазия фолликулов и пульпы (микрофото 7 и 8), иногда с увеличением в количестве полиморфноядерных лейкоцитов в венозных синусах и явлениями миэлоза; наблюдается также инфильтрация пульпы единичными гиалинизированными клетками<sup>1</sup> и изредка гистиоцитами. На отдаленных сроках лимфатические фолликулы небольшой величины, а пульпа немного или умеренно гиперплазирована; кроме того, ткань повсюду инфильтрирована многочисленными эозинофилами, заполняющими также просвет венозных синусов; у животных, зараженных культурой штамма ВА, наряду с этим в пульпе и фолликулах обнаруживаются иногда (9—12 месяцев) очажки пролиферации ретикулярных и эпителиоидных клеток, а также воспалительные узелки (микрофото 9 и 10), построенные из ретикулярных, эпителиоидных, плазматических и многоядерных гигантских клеток со слабо выраженным некрозом в центре (кариорексис) и с признаками фиброзного превращения в периферической части; у этих же животных иногда встречаются расположенные в пульпе кровоизлияния.

Легкие при вскрытии животных на ранних и средних сроках после заражения выглядят немного и неравномерно полнокров-

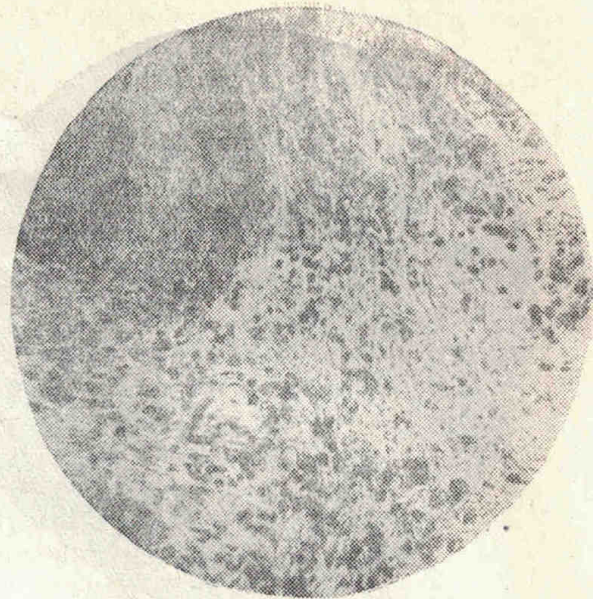
<sup>1</sup> Небольшие круглые или овальные элементы с однородной резко эозинофильной протоплазмой и плотным смещенным к периферии серповидным ядром.

ными; кроме того, здесь обнаруживаются периферически расположенные небольшие очажки — вначале красноватые, затем серовато-красные, затем серовато-розовые и, наконец, серовато-бурые; указанные очажки у животных, зараженных культурой штамма 793, встречаются заметно чаще, чем у животных, зараженных культурой штамма ВА; начиная с 30-го дня эти очажки у тех и других животных обнаруживаются реже, а на отдаленных сроках они либо вовсе не имеют места, либо являются единичными. Под микроскопом в той и другой группе животных весьма постоянно (начиная с самых ранних сроков и кончая самыми отдаленными) обращает на себя внимание небольшая или умеренная и, как правило, неравномерно выраженная инфильтрация межальвеолярных перегородок (микрофото 11) гистиоцитами, эпителиоидными клетками и лимфоцитами, нередко с примесью эозинофилов и единичных гиалинизированных клеток. Эта инфильтрация преобладает близ плеврального покрова, а также по ходу кровеносных сосудов; иногда она приобретает характер небольших, более или менее четко сформированных очагов, в области которых альвеолярная структура ткани неразличима. Довольно часто на средних и отдаленных сроках у тех и других животных, но как будто чаще у зараженных культурой штамма ВА, имеет место умеренная или массивная периваскулярная инфильтрация лимфоцитами с примесью гистиоцитов и плазматических клеток; изредка подобная периваскулярная инфильтрация приобретает характер расположенных близ сосудов и непосредственно связанных с последними довольно крупных очажков. Иногда легочная ткань в той или иной степени гиперемирована, местами отечна; кроме того, у некоторых животных наблюдается гиперплазия лимфатических фолликулов.

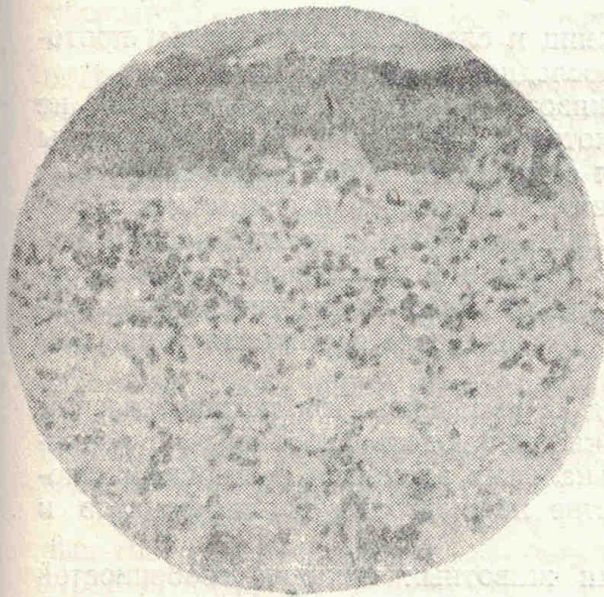
Печень при вскрытии животных на ранних сроках (7—10-й день) выглядит слегка тусклой на разрезе. В дальнейшем она представляется совершенно нормальной, но у некоторых животных, зараженных культурой штамма ВА (3 свинки), на отдаленных сроках (9—12 месяцев) в этом органе обнаруживаются более или менее многочисленные мелкие сероватые узелки. Гистологически отмечается гиперплазия звездчатых клеток с мелкоочаговой пролиферацией последних (микрофото 12 и 13), обычно преобладающей близ кровеносных сосудов и наблюдающейся у тех и других животных от самых ранних до самых поздних сроков; среди пролиферирующих звездчатых элементов можно наблюдать примесь гистиоцитов и эпителиоидных клеток; наряду с этим у животных, зараженных культурой штамма ВА, изредка (отдаленные сроки) обнаруживаются расположенные близ сосудов воспалительные узелки, построенные из лимфоцитов, эпителиоидных, плазматических и многоядерных гигантских клеток, иногда с некрозом в центре в форме кардио- и плазмолиза; в то же время у животных, зараженных культурой штамма 793, изредка встречаются (средние сроки) очажки некоторого некробиоза печеночной паренхимы (явления кардио- и плазмолиза) с пролиферацией здесь звездчатых клеток и единичные мелкие кровоизлияния в паренхиме с инфильтрацией их по периферии звездчатыми элементами. Довольно часто у животных той и другой группы на ранних и средних сроках наблюдается умеренная зернистая или зернисто-жировая дистрофия паренхимных элементов, представленная



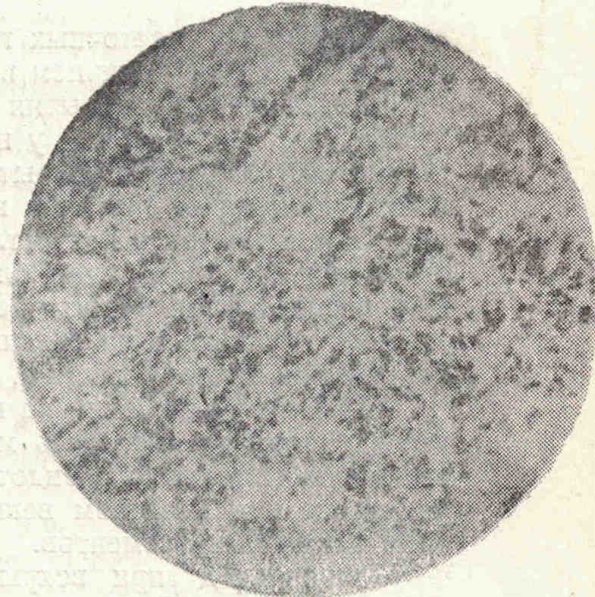
Микрофото 13. Очажок пролиферации звездчатых клеток в печени у морской свинки, зараженной большой дозой штамма ВА (убита на 30-й день). Ув. 320 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 14. Клеточная инфильтрация соединительно тканного слоя кожи в месте нанесения культуры у морской свинки, зараженной малой дозой штамма 793 (убита через 6 месяцев). Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-эозином.

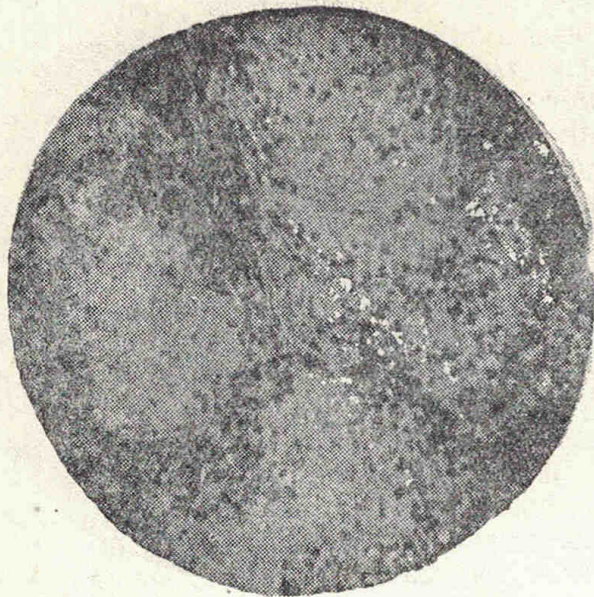


Микрофото 15. Клеточная инфильтрация сосочкового слоя дермы в месте нанесения культуры на отдаленном сроке у морской свинки, зараженной малой дозой штамма 793 (убита через 13,5 месяца). Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-эозином.

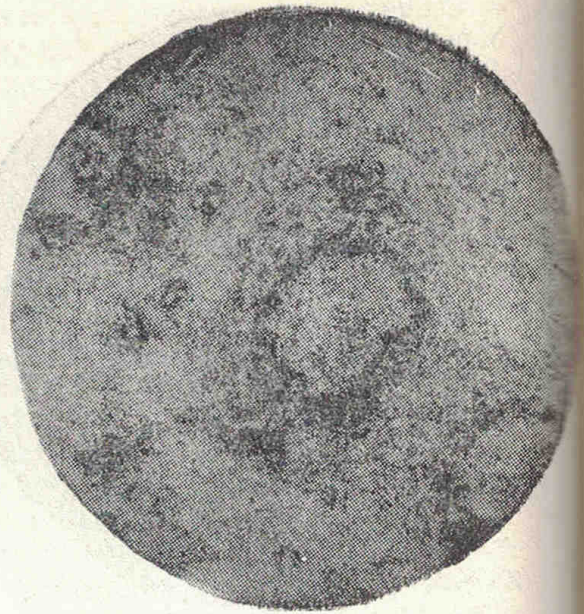


Микрофото 16. Клеточная инфильтрация сосочкового слоя дермы в месте нанесения культуры на отдаленном сроке у морской свинки, зараженной малой дозой штамма ВА (убита через 13,5 месяца). Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-эозином.





Микрофото 17. Очажки пролиферации ретикулярных и эпителиоидных клеток в регионарном лимфатическом узле у морской свинки, зараженной малой дозой штамма 793 (убита на 30-й день). Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-пикрофуксином.



Микрофото 18. Гиперплазия фолликулов и пульпы в селезенке у морской свинки, зараженной малой дозой штамма 793 (убита через 2 месяца). Ув. 56 раз; окраска гематоксилин-эозином.

неотчетливостью клеточных границ и слегка тусклым видом протоплазмы, иногда с наличием в последней вакуолей.

Почки при вскрытии животных отчетливых изменений не имеют. Под микроскопом у некоторых свинок той и другой группы независимо от сроков вскрытия отмечается слабо выраженная зернистая дистрофия эпителия извитых канальцев в форме некоторой набухлости клеток и неотчетливости их границ; иногда наблюдается также преобладающая близ сосудов и клубочков мелкоклеточная инфильтрация межтубулярной ткани и небольшая гиперплазия эндотелия клубочков; на средних сроках после заражения ткань бывает также гиперемирована.

Надпочечники на вид не изменены. При гистологическом исследовании органа здесь можно наблюдать небольшую и неравномерную гиперплазию эндотелиальных элементов и иногда располагающиеся в мозговом веществе инфильтраты из лимфоцитов и эндотелиальных элементов.

Миокард при вскрытии животных никаких особенностей не представляет. Под микроскопом здесь изменения также, как правило, отсутствуют; лишь у некоторых свинок той и другой группы отмечается неясность поперечной исчерченности мышечных волокон и изредка обнаруживаются расположенные близ сосудов инфильтраты из лимфоцитов и эозинофилов.

В костном мозгу, начиная с 10—15-го дня после заражения, ткань несколько гиперплазирована и содержит в увеличенном количестве мегакариоциты; на отдаленных сроках это сочетается с обильной инфильтрацией ткани эозинофилами; у одной свинки (из числа зараженных штаммом ВА), убитой спустя 12 месяцев, здесь,

кроме того, обнаружен построенный из эпителиоидных клеток и лимфоцитов воспалительный узелок.

В головном мозгу отчетливых изменений не установлено. Лишь у одного животного, из группы зараженных штаммом 793, обнаружен расположенный близ кровеносного капилляра воспалительный очажок из глиозных и эндотелиальных элементов без каких-либо изменений собственных тканевых элементов органа.

## II

У животных, зараженных малой дозой, место введения культуры на вид заметных изменений не представляет. Под микроскопом здесь отмечается небольшая или умеренная, обычно неравномерная или очажковая инфильтрация дермы (микрофото 14) за счет лимфоцитов с примесью эпителиоидных клеток, набухших фибробластов и эозинофилов; указанная инфильтрация преобладает в сосочковом слое дермы, наблюдается как на ранних и средних, так и на самых отдаленных сроках (микрофото 15 и 16) и разницы в зависимости от примененного штамма не обнаруживает.

Регионарные лимфатические узлы немного увеличены в размере (от  $0,3 \times 0,4$  см до  $0,5 \times 0,5$  см), что у животных, зараженных культурой штамма 793, наблюдается до 4—9 месяцев, а у животных, зараженных культурой штамма ВА, до 9—12 месяцев. Гистологически здесь отмечается небольшая или умеренная затяжная лимфоидная и ретикулярная гиперплазия ткани с более или менее значительной инфильтрацией последней эозинофилами (средние и отдаленные сроки). У животных, зараженных культурой штамма 793, кроме того, иногда обнаруживаются (ранние сроки) очажки пролиферации ретикулярных и эпителиоидных элементов (микрофото 17).

Подвздошные лимфатические узлы на вид обычно не изменены; лишь у некоторых животных на ранних и средних сроках (1—4 месяца) они немного увеличены ( $0,3 \times 0,4$  см— $0,3 \times 0,5$  см). Гистологически здесь изменения либо вообще отсутствуют, либо наблюдается незначительная лимфоидная и ретикулярная гиперплазия ткани и более или менее значительная инфильтрация ее эозинофилами (отдаленные сроки); иногда ткань бывает заметно гиперемирована.

Отдаленные лимфатические узлы у многих животных той и другой группы, но несколько чаще у зараженных культурой штамма ВА, представляются на средних и отдаленных сроках умеренно увеличенными в размере (от  $0,4 \times 0,4$  см до  $0,5 \times 0,5$  см); вообще же они на вид не изменены. Гистологически имеет место небольшая или умеренная лимфоидная и ретикулярная гиперплазия, сочетающаяся на средних и отдаленных сроках с обильной инфильтрацией ткани эозинофилами; инфильтрация нередко распространяется также на капсулу узла и окружающую его клетчатку.

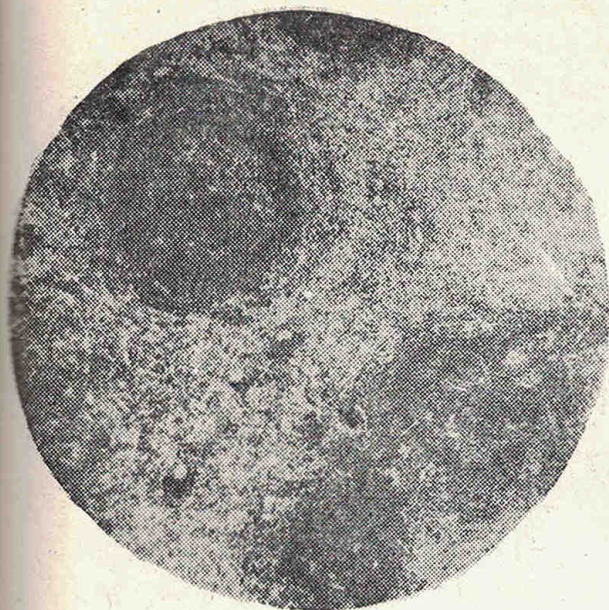
Селезенка при вскрытии животных, как правило, имеет слегка припухший вид и иногда несколько увеличенные в размере фолликулы. Под микроскопом отмечается гиперемия и более или

Менее заметная гиперплазия фолликулов и пульпы (микрофото 18 и 19); указанная гиперплазия ткани наиболее отчетливо выражена на ранних и средних сроках (1—3 месяца), сочетаясь с инфильтрацией последней мелкими миелоидными элементами и мегакариоцитами; с течением времени эта гиперплазия становится все менее отчетливой и менее постоянной; на отдаленных сроках (9—13½ месяцев) обычно ей сопутствует обильная инфильтрация ткани эозинофилами, заполняющими также просвет венозных синусов; наряду с этим у некоторых животных из группы зараженных культурой штамма 793 наблюдается инфильтрация пульпы немногочисленными гиалинизированными и плазматическими клетками.

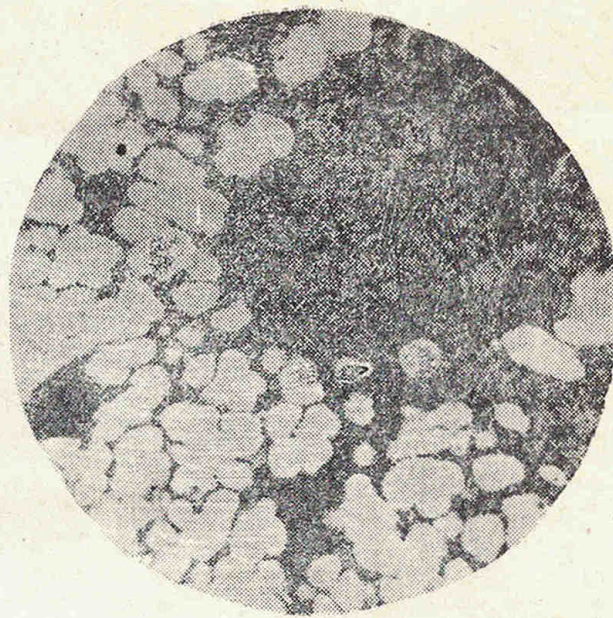
Легкие при вскрытии животных на ранних и средних сроках представляются неравномерно полнокровными, а у животных, зараженных культурой штамма ВА, они иногда содержат единичные мелкие кровоизлияния; кроме того, здесь в той и другой группе животных независимо от сроков вскрытия обнаруживаются небольшие периферически расположенные серовато-бурые очажки. Гистологически наиболее постоянным типом изменений является небольшая и, как правило, неравномерная инфильтрация межальвеолярных перегородок за счет гистиоцитов, эпителиоидных клеток и лимфоцитов с примесью (на отдаленных сроках) эозинофилов; иногда указанная инфильтрация принимает вид более или менее ясно выраженных и нередко сливающихся между собой очажков (микрофото 20 и 21), располагающихся близ плеврального покрова, а также по ходу кровеносных сосудов. Довольно постоянно почти на всех сроках наблюдается умеренная или значительная (отдаленные сроки) периваскулярная инфильтрация (микрофото 22) лимфоцитами с примесью плазматических клеток. Изредка легочная ткань бывает гиперемирована, а у животных, зараженных культурой штамма ВА, кроме того, местами отека.

Печень на вид обычно не изменена; лишь у некоторых животных той и другой группы, при вскрытии последних на ранних и средних сроках (1—6 месяцев), она представляется слегка тусклой на разрезе; на отдельных сроках в этом органе изредка встречаются также единичные мелкие серовато-белые узелки. Гистологически у большинства животных, независимо от сроков вскрытия и примененного для заражения штамма, имеет место гиперплазия звездчатых элементов с преобладающей близ кровеносных сосудов очаговой пролиферацией последних (микрофото 23 и 24); нередко в подобных очажках среди звездчатых элементов отмечается примесь гистиоцитов, эпителиоидных клеток и лимфоцитов; кроме того, у животных, зараженных культурой штамма ВА, на отдаленных сроках иногда встречаются единичные некробиотические очажки с сильной гиперемией ткани и резко выраженной вакуолизацией протоплазмы печеночных клеток. Изредка у тех и других животных наблюдается небольшая зернисто-жировая дистрофия паренхимных элементов органа в форме некоторой неотчетливости клеточных границ и вакуолистости протоплазмы.

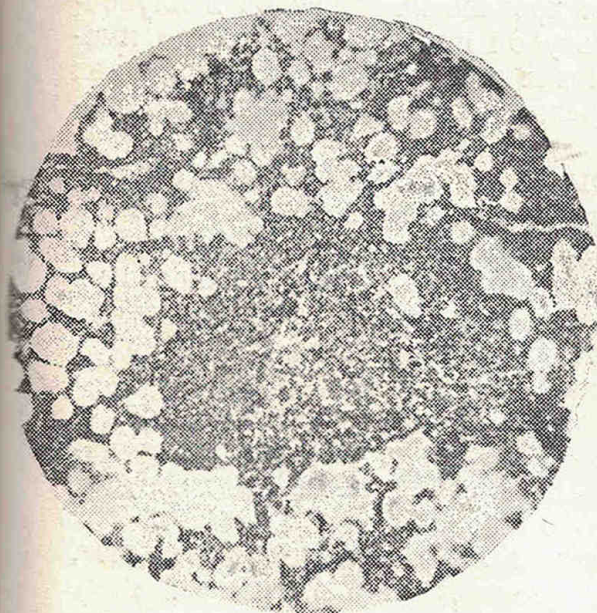
Почки при вскрытии животных выглядят вполне нормальными. Под микроскопом здесь изредка наблюдается слабо выраженная зернистая дистрофия эпителия извитых канальцев первого и второго порядка в виде небольшой набухлости клеток и неотчет-



Микрофото 19. Гиперплазия фолликулов и пульпы в селезенке у морской свинки, зараженной малой дозой штамма ВА (убита через 2 месяца). Ув. 56 раз; окраска гематоксилин-эозином.



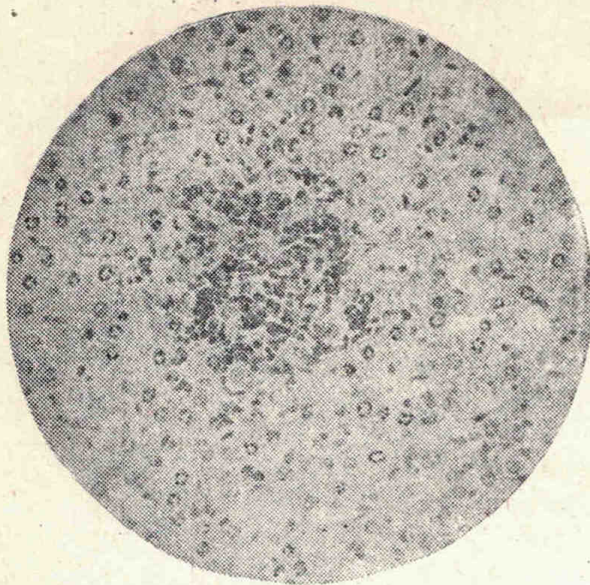
Микрофото 20. Очаг клеточной инфильтрации в легком у морской свинки, зараженной малой дозой штамма 793 (убита через 3 месяца). Ув. 80 раз; окраска гематоксилин-пикрофуксином.



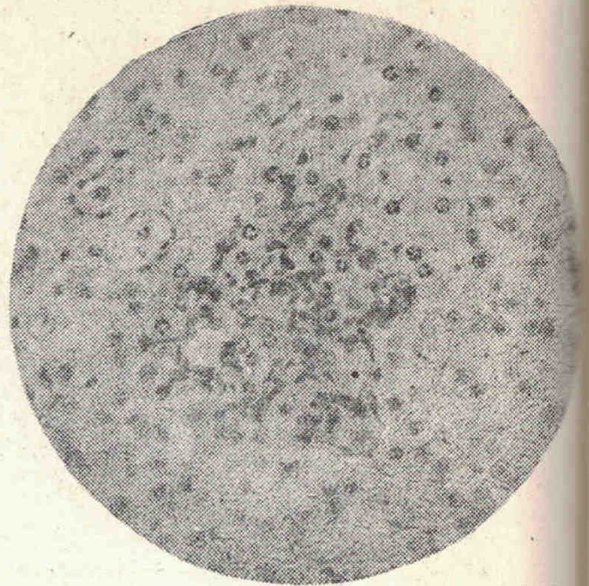
Микрофото 21. Очаг клеточной инфильтрации в легком у морской свинки, зараженной малой дозой штамма ВА (убита через 30 дней). Ув. 80 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 22. Мелкоклеточная инфильтрация по ходу кровеносного сосуда в легком у морской свинки, зараженной малой дозой штамма ВА (убита через 12 месяцев). Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 23. Очажок пролиферации звездчатых элементов в печени у морской свинки, зараженной малой дозой штамма 793 (убита через 6 месяцев). Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-пикрофуксином.



Микрофото 24. Очажок пролиферации звездчатых элементов в печени у морской свинки, зараженной малой дозой штамма ВА (убита через 2 месяца). Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-эозином.

ливости их границ; наряду с этим нередко отмечается инфильтрация межуточной ткани лимфоцитами и плазматическими клетками, преобладающая, как правило, близ кровеносных сосудов и клубочков; у животных, зараженных культурой штамма 793, иногда имеет место также умеренная гиперплазия эндотелия клубочков; у тех и других животных на ранних и средних сроках ткань бывает диффузно гиперемирована.

Надпочечники при вскрытии животных никаких особенностей не представляют. Гистологически здесь нередко отмечается небольшая гиперплазия эндотелиальных элементов и иногда очаговая пролиферация последних в мозговом веществе; у животных, зараженных культурой штамма ВА, кроме того, в этом органе на отдаленных сроках (12—13,5 месяца) можно наблюдать резкое расширение и полнокровие кровеносных капилляров.

М и о к а р д при вскрытии животных и под микроскопом обычно не изменен; лишь иногда здесь у тех и других животных наблюдается незначительная межуточная инфильтрация близ сосудов за счет лимфоцитов.

В костном мозгу изменения либо вообще отсутствуют, либо здесь отмечается гиперплазия с увеличением в количестве мегакариоцитов и обильная инфильтрация ткани эозинофилами на отдаленных сроках.

В головном мозгу отчетливых изменений нет, но у животных, зараженных культурой штамма 793, иногда встречаются расположенные близ сосудов единичные очажки, построенные из глиозных и эндотелиальных элементов; при этом собственные элементы органа, как и сами очажки, никаких признаков альтерации не обнаруживают.

У животных, которые по ходу опыта заболели и пали независимо от примененного для заражения штамма<sup>1</sup>, установлена более или менее отчетливая очаговая пневмония с серозно-геморрагическим, катарральным, серозно-фибринозным или гнойным экссудатом в альвеолах, иногда содержащим многочисленные кокко-бациллы<sup>2</sup>, с явлениями воспалительного поражения бронхов, а также с отчетливо выраженными дистрофическими изменениями в печени, почках, миокарде, надпочечниках (зернисто-жировая дистрофия) и с неспецифическими изменениями в селезенке и лимфатических узлах; все это нередко сопровождается общим истощением животных.<sup>3</sup>

Наконец, у одной свинки, зараженной малой дозой штамма 793 и павшей на 9-й день после заражения в связи с родами, установлены общеинфекционного характера изменения без отчетливых признаков специфичности;<sup>4</sup> в частности, здесь отмечены: гиперемия и диффузная инфильтрация лимфоцитами, гистиоцитами, плазматическими, эпителиоидными и моноцитонидными клетками в лимфатических узлах и селезенке; резкая неравномерная гиперемия легких с заполнением эритроцитами полостей альвеол и слущиванием эпителия слизистой бронхов; зернисто-жировая дистрофия паренхимных элементов печени, миокарда и почек с наличием в корковом веществе последних довольно крупных кист.

У детеныша, родившегося от этой свинки и затем на 3-й день погибшего, установлена резкая гиперемия легких, некоторый миелоз пульпы в селезенке, гиперемия и зернисто-жировая дистрофия паренхимных элементов печени и небольшая зернистая дистрофия мочевых канальцев почек.<sup>5</sup>

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вышеприведенные данные показывают, что у морских свинок, зараженных на кожу культурой бруцеллезного штамма 793, развивается слабо выраженная бруцеллезная инфекция с затяжным течением. Бактериологически эта инфекция характеризуется обильным и довольно продолжительным (1—2 месяца) обсеменением органов бруцеллами.

Основными патоморфологическими проявлениями этой инфекции являются: небольшой, постепенно рассасывающийся воспалительный инфильтрат в коже в месте нанесения культуры; гиперплазия регионарных и отдаленных лимфатических узлов с инфильтрацией ткани на средних и отдаленных сроках эозинофилами; гиперплазия фолликулов и пульпы селезенки с явлениями миелоза и наличием гиалинизированных клеток, а также с инфильтрацией эозинофилами на отдаленных сроках; диффузная или очаговая клеточная инфильтрация межальвеолярных перегородок легких, преобладающая по ходу кровеносных сосудов и близ плеврального покрова; слабо выраженная зернисто-жировая дистрофия паренхимных клеток печени (изредка с явлениями очагового некробиоза), гиперплазия ее ретикуло-эндотелиальных элементов и мелкоочаговая пролиферация последних; слабо выраженная зернистая дистрофия эпителия извитых канальцев почек с мелкоочаговой клеточной инфильтрацией их межуточной ткани; слабо выраженная межуточная инфильтрация миокарда; гиперплазия ретикуло-эндо-

<sup>1</sup> Сюда относятся 7 морских свинок, зараженных культурой штамма 793 (4 — большой дозой и 3 — малой дозой), и 6 морских свинок, зараженных культурой штамма ВА (3 — большой дозой и 2 — малой дозой).

<sup>2</sup> Посев на бруцеллы дал отрицательный результат.

<sup>3</sup> Указанное явление обычно совпадало с весенним или весенне-летним «авитаминозным» периодом.

<sup>4</sup> Посевы из органов на бруцеллы также дали рост только из регионарного лимфатического узла (см. выше).

<sup>5</sup> Посевы из органов роста бруцелл не дали.

телиальных элементов надпочечников; гиперплазия и инфильтрация эозинофилами костного мозга.

Отмеченные изменения по своему характеру и степени выраженности в общем одинаковы при той и другой заражающих дозах. Вместе с тем они совпадают с изменениями, вызываемыми штаммом ВА, несколько превышая их по клеточной пролиферации в регионарных лимфатических узлах.

Прослеженный в течение длительного времени (13<sup>1</sup>/<sub>2</sub> месяцев) доброкачественный характер изменений в органах с общей наклонностью их к постепенной ликвидации при отсутствии случаев развития типичного бруцеллеза и при полном прекращении выделения бруцелл на отдаленных сроках свидетельствует о слабой патогенной силе испытуемого штамма, хотя и не дает уверенности в его полной безвредности.<sup>1</sup>

Отмечающаяся более высокая инвазионная способность штамма 793 по сравнению с таковой у штамма ВА и наряду с этим несколько более выраженные патоморфологические изменения в органах у морских свинок, зараженных культурой этого штамма, по видимому, подтверждают ранее установленный факт<sup>2</sup> наличия у него превосходящих иммуногенных свойств.

#### ВЫВОДЫ

1. У морских свинок, зараженных подкожно культурой бруцеллезного штамма 793, патоморфологические изменения имеют доброкачественный характер с наклонностью к ликвидации на отдаленных сроках.

2. Бруцеллезный штамм 793 при подкожном применении его в небольших и средних дозах на морских свинках проявляет себя как безвредный.

<sup>1</sup> В этом отношении представляет интерес тот факт (см. выше), что даже вакцина ВА вызвала у некоторых подопытных животных (отдаленные сроки) изменения, характерные для типичного бруцеллеза.

<sup>2</sup> Н. Д. Алтарева, Р. С. Колесник. Патоморфологические и бактериологические данные о бруцеллезе у зараженных после вакцинации живыми культурами морских свинок. См. настоящий сборник.

В. С. Колесник

### К ПАТОМОРФОЛОГИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АСПИРАЦИОННОГО БРУЦЕЛЛЕЗА

В числе других возможных путей естественного заражения бруцеллезом следует иметь в виду также вдыхание взвешенной в воздухе инфицированной пыли (Каракулов, 1951; Целищев, 1949), а может быть и инфицированных капелек влаги.

Возможность заражения бруцеллезом через органы дыхания представляется вполне вероятной по следующим соображениям:

1. Возбудитель бруцеллеза обладает большой устойчивостью к высыханию, что позволяет ему долго находиться в жизнеспособном состоянии на пылевых частицах после его выделения из большого организма (Кеннеди<sup>1</sup>).

2. Едва ли органы дыхания и их внутренний покров могут быть по отношению к возбудителю бруцеллеза более устойчивыми, чем пищеварительный тракт, который является для бруцеллезной инфекции общепризнанными входными воротами.

3. Если аэрогенное заражение свойственно таким вяло протекающим инфекциям, как туберкулез, туляремия и проказа, то вполне логично предполагать возможность его и для бруцеллеза, с которым указанные инфекции имеют много общего по характеру развивающихся в организме поражений.

Задавшись целью представить ориентировочную характеристику предполагаемого аэрогенного бруцеллеза, мы предприняли опыты на белых мышах с заражением их бруцеллезом методом аспирации.<sup>2</sup>

После заражения животные на разных сроках (от 2 часов до 149 дней) убивались хлороформом (по 2—4 мыши на срок) и немедленно вскрывались; при этом регистрировались видимые на глаз изменения органов, брался материал для гистологического исследования и производился посев из органов на питательную среду для выделения бруцелл. Некоторые животные этой группы гибли от самой болезни и также подвергались вскрытию.

Одна группа мышей была для сравнения заражена бруцеллезом подкожно.<sup>3</sup> Животные здесь также убивались хлороформом (сроки от 6 часов до 54 дней) и немедленно вскрывались.

<sup>1</sup> Приводится по Х. С. Котляровой, Бруцеллез, 1947.

<sup>2</sup> Животному под легким хлороформным наркозом наносились на ноздри 2 капли взвеси бруцелл (овечьего типа) на физиологическом растворе с определенным содержанием их в 1 мл, а именно: 1 млрд., 10 млн., 100 тыс. и 1 тысяча.

<sup>3</sup> Доза 100 млн. микробов того же штамма.



Взятый для гистологического исследования материал фиксировался в 12% формалине и заливался в целлоидин; срезы толщиной в 4—6 микрон красились гематоксилин-эозином, гематоксилин-пикрофуксином и в случаях надобности — суданом III на жир.

По животным, зараженным большой дозой (эмульсия из 1 млрд. микробов в 1 мл), полученные бактериологические и патоморфологические данные уже опубликованы<sup>1</sup> и свидетельствуют о том, что у белых мышей при аспирационном заражении их бруцеллезом возникает поражение легких, которое вначале имеет характер первичной специфической пневмонии, а в дальнейшем уступает место картине обычного бруцеллеза со свойственным для него поражением органов.

В настоящем сообщении приводятся патоморфологические данные по животным, зараженным бруцеллезной эмульсией, содержащей 10 млн. микробов в 1 мл физиологического раствора. При этом наряду с ранними и средними сроками после заражения представлены также поздние сроки. Кроме того, здесь дается сопоставление патоморфологических данных по аспирационному и подкожному заражению.

У животных, зараженных аспирационно и на разных сроках убитых, при вскрытии установлено следующее.

Легкие, не имеющие видимых изменений через 2 часа после заражения, в промежутке от шестичасового до двухсуточного срока у некоторых животных незначительно и неравномерно полнокровны; на 3—4-й день подобная гиперемия более отчетлива, а на 5-й день она у одного животного достигает значительной степени, причем на фоне гиперемии разбросаны единичные пневмонические очаги; на 9-й день гиперемия еще более значительна, а у одного животного обнаружен крупный пневмонический очаг; на 15-й день пневмонические очаги многочисленны, хотя в общем и не достигают большой величины, а гиперемия местами производит впечатление кровоизлияний; на 22—30-й день пневмонические очаги встречаются редко и имеют совсем небольшую величину, а вне очагов ткань умеренно и неравномерно гиперемирована и иногда содержит многочисленные кровоизлияния; на отдаленных сроках (92—149-й день) у одних животных легкие на вид не изменены, у других они содержат более или менее отчетливо выраженные пневмонические очаги. Лимфатические узлы, прежде всего — подчелюстные и бронхопультмональные, начиная с 3-го дня, в той или иной степени, а в общем немного увеличены, что представляется несколько более отчетливым на отдаленных сроках. Селезенка, начиная с первых суток после заражения, умеренно полнокровна и к 5-му дню оказывается слегка припухшей; эта припухлость сочетается с увеличением органа в объеме, вполне отчетливым к 15-му дню после заражения и еще более значительным (в 3—3,5 раза) на отдаленных сроках. Печень у некоторых животных представляется слегка увеличенной в объеме (начиная с 4-го дня), у других она тускловата на разрезе (с 7-го дня), у третьих — слегка увеличена и дрябловата, у четвертых этот орган содержит немногочисленные мелкие серовато-белые узелки (начиная с 15-го дня); на отдален-

<sup>1</sup> Лорбер Б. Б. и Колесник В. С., 1953.

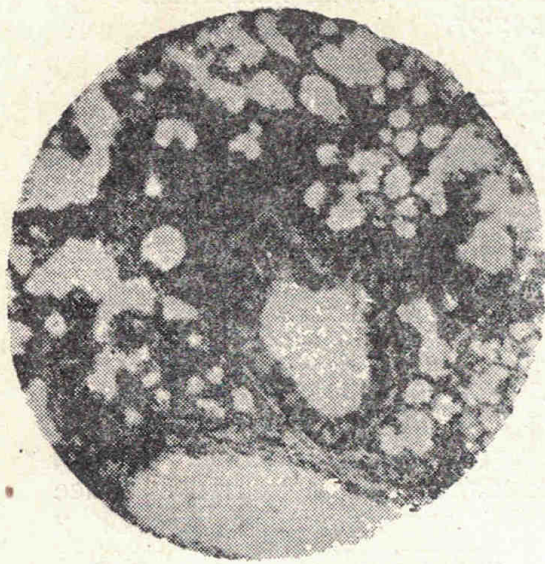
ных сроках изменения печени ограничиваются небольшим увеличением ее в объеме. Остальные органы при вскрытии животных вообще ничего характерного не представляют.

### Гистологическая картина

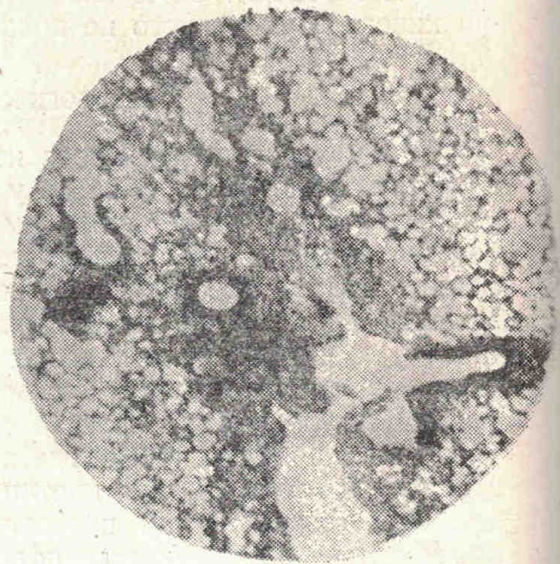
В легких через 2 часа после заражения никаких изменений не установлено; через 6 часов у одних животных ткань нормальна, у других (двое из четырех) имеются участки резкой гиперемии с соответствующим утолщением межальвеолярных перегородок и умеренной инфильтрацией последних гистиоцитами. Через 1 сутки изменения еще весьма неотчетливы, т. е. заметно уступают изменениям у животных шестичасового срока. Спустя 2 суток легочная ткань гиперемирована и местами довольно отчетливо инфильтрирована гистиоцитами. Через 3 суток в утолщенных межальвеолярных перегородках, кроме гистиоцитов, имеются сходные с ними гистиоцитоподобные клетки (однойдерные элементы с более или менее вакуолистой протоплазмой), эпителиоидные клетки и лимфоциты, причем участки подобной инфильтрации располагаются по преимуществу близ бронхов (микрофото 1).

На 4-й день клеточная инфильтрация межальвеолярных перегородок довольно обильна, отдельные инфильтраты сливаются между собой; кроме того, близ бронхов встречаются участки гиперемии (микрофото 2), почти лишенные клеточной инфильтрации; в области инфильтратов ткань также более или менее гиперемирована. На 5-й день инфильтрация легочной ткани большей частью диффузна и неравномерна, а на этом фоне заметны очажки, в области которых прилегающие к инфильтрированным межальвеолярным перегородкам полости альвеол заполнены полиморфноядерными лейкоцитами, эритроцитами и крупными однойдерными клетками типа гистиоцитов; располагаются эти очаги опять-таки близ бронхов, которые при этом сами по себе не изменены, но окружающие их лимфатические пути в той или иной степени расширены и забиты клеточными элементами (гистиоциты, гистиоцитоподобные клетки, лимфоциты).

На 7-й день у одного животного обнаружено множество сливающихся между собой пневмонических очагов (микрофото 3), в области которых на фоне гиперемии и отека межальвеолярные перегородки инфильтрированы клетками, а полости альвеол забиты экссудатом, состоящим из полиморфноядерных лейкоцитов, элементов типа гистиоцитов и серозной жидкости; в последней местами заметны подозрительные в смысле бруцелл мелкие базофильные зерна; на периферии очагов отмечается резкая гиперемия, отек и серозная экссудация; бронхи в области пневмонических очагов содержат в просвете гнойный экссудат, а окружающие их лимфатические пространства забиты клетками, отчасти инфильтрирующими наружные слои бронхиальных стенок и прилегающую к бронхам соединительную ткань; отмечается также резкий периваскулярный отек и инфильтрация по ходу сосудов гистиоцитами и лимфоцитами. У остальных трех животных этого срока имеет место более или менее значительная клеточная инфильтрация межальвеолярных перегородок, сочетающаяся с гиперемией и преобладающая близ бронхов.



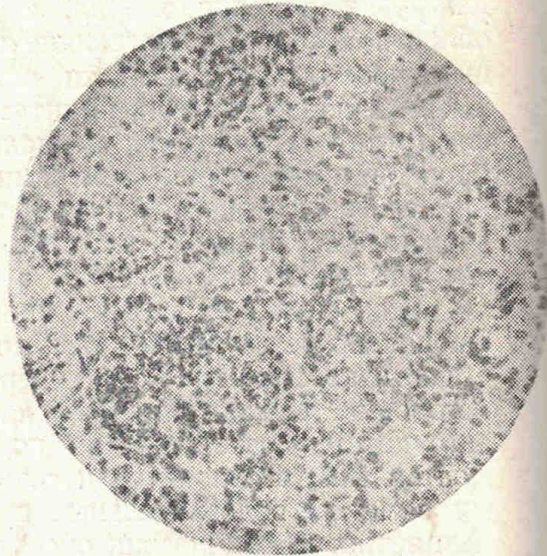
Микрофото 1. Начальная пневмоническая инфильтрация близ бронха; 4-й день после аспирационного заражения; ув. 120 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 2. Участки гиперемии (начало развития пневмонических очагов) в окружности бронха; 4-й день после аспирационного заражения; ув. 80 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 3. Сливающиеся между собой пневмонические очаги; 7-е сутки после аспирационного заражения; ув. 150 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 4. Пневмонический очаг (инфильтрация межальвеолярных перегородок и клеточный экссудат в альвеолах); 15 суток после аспирационного заражения; ув. 400 раз; окраска гематоксилин-пикрофуксином.



Микрофото 5. Воспалительная инфильтрация по ходу кровеносного сосуда с захватом его стенок в области пневмонического очага; 15 суток после аспирационного заражения; ув. 80 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 6. Пневмонические очажки на фоне клеточной инфильтрации легочной ткани; 25 дней после аспирационного заражения; ув. 70 раз; окраска гематоксилин-эозином.

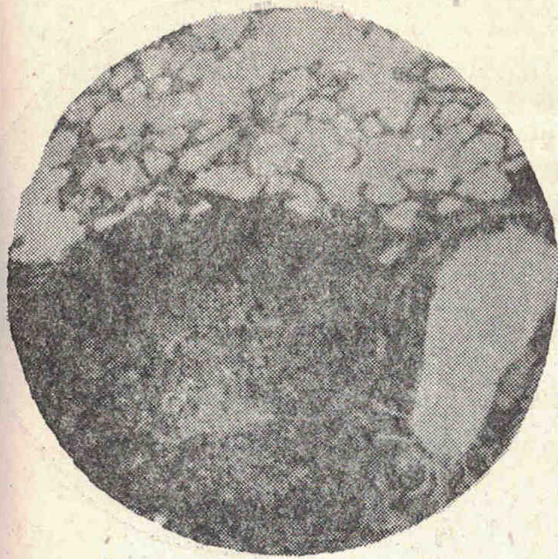
На 9-й день установленное у одного животного при вскрытии пневмоническое поражение легкого (см. выше) под микроскопом имеет вид располагающихся по ходу бронхов четко очерченных очагов, в области которых полости альвеол забиты лейкоцитами, а межальвеолярные перегородки инфильтрированы гистиоцитами, эпителиоидными и плазматическими клетками, лимфоцитами; бронхи заполнены гнойным экссудатом, эпителиальная выстилка их не изменена, перибронхиальные лимфатические пространства в той или иной степени расширены и забиты клетками, перибронхиальная соединительная ткань — в состоянии клеточной инфильтрации, вполне сходной с таковой в межальвеолярных перегородках; кровеносные сосуды окружены лимфоцитами с примесью плазматических и эпителиоидных клеток; на периферии некоторых пневмонических очагов отмечается резкая гиперемия; за пределами очагов ткань обычно инфильтрирована клетками или же находится в состоянии эмфиземы. У остальных животных данного срока легочная ткань лишь неравномерно и незначительно инфильтрирована гистиоцитоидными и эпителиоидными клетками с примесью лимфоцитов и плазматических клеток; инфильтрация эта у одного животного сочетается с гиперемией ткани и наличием в последней кровоизлияний.

На 15-й день пневмония как таковая (микрофото 4), установлена опять-таки лишь у одного из четырех животных; очаги воспаления здесь расплывчаты и сливаются между собой; располагаются они большей частью так, что охватывают собой тот или иной бронх, который при этом сам по себе представляется совершенно нормальным; лишь окружающие его лимфатические щели расширены и забиты клетками (лимфоидные, плазматические гистиоци

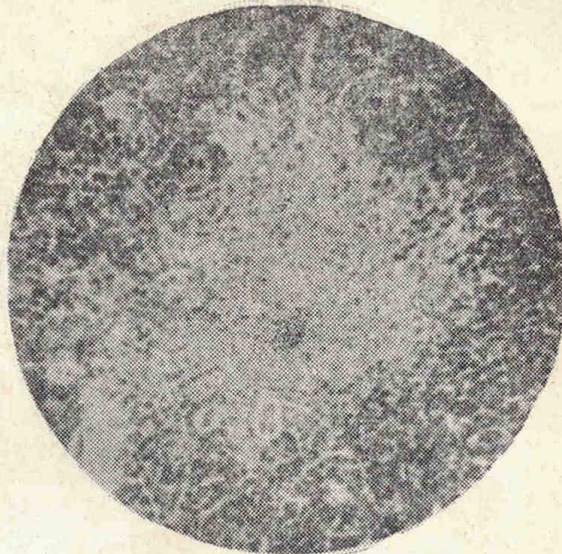
тоидные, эпителиоидные), а в просвете можно видеть гнойный экссудат; подобное же скопление клеток, но гораздо более массивное, отмечается вокруг кровеносных сосудов (микрофото 5); полости альвеол сужены и в глубине очагов забиты полиморфноядерными лейкоцитами, а в краевой части их содержат много серозной жидкости; межальвеолярные перегородки в области очагов повсюду резко утолщены и обильно инфильтрированы гистиоцитами, гистиоцитоидными и эпителиоидными клетками и изредка попадающимися лимфоцитами и плазматическими клетками. У остальных трех животных в легочной ткани имеются лишь более или менее густые инфильтраты, располагающиеся по преимуществу близ бронхов и состоящие из гистиоцитоидных, эпителиоидных, лимфоидных и плазматических клеток; обращают на себя внимание четко очерченные муфты вокруг кровеносных сосудов, состоящие из лимфоцитов с примесью плазматических и эпителиоидных клеток; подобные же муфтообразные скопления клеток имеются вокруг некоторых бронхов.

На 22—30-й день легочная ткань довольно обильно и неравномерно инфильтрирована клетками, причем у одного животного на фоне этой инфильтрации встречаются пневмонические очажки (микрофото 6) с экссудатом в альвеолах, состоящим из полиморфноядерных лейкоцитов с небольшой примесью эпителиоидных клеток. У двух других животных встречаются более или менее четко сформированные узелки (микрофото 7), представляющиеся в виде компактного скопления гистиоцитоидных и эпителиоидных клеток, окруженного лимфоцитами и плазматическими клетками; нередко подобные формирующиеся узелки располагаются в толще муфтообразных периваскулярных инфильтратов, состоящих на этих сроках преимущественно из плазматических клеток; бронхи не изменены — не считая поражения окружающих их лимфатических путей (см. выше) и воспалительной инфильтрации наружных слоев их стенок.

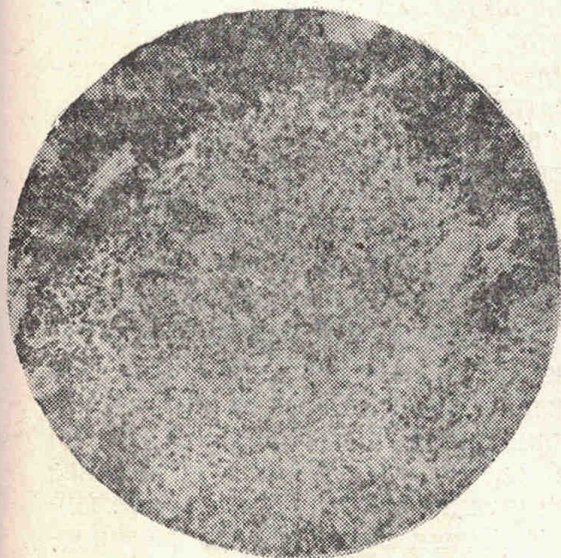
В бронхо-пульмональных лимфатических узлах в течение первых 4 суток отчетливых изменений нет. На 5-й день в ткани узлов заметны участки, где более или менее увеличены в количестве и выглядят набухшими ретикулярные клетки. На 7-й день подобная ретикулярная гиперплазия представляется более отчетливой и более диффузной, а у одного животного при отсутствии гиперплазии ретикулярных элементов обращает на себя внимание резкая гиперемия и отек ткани с преимущественно периваскулярной инфильтрацией ее плазматическими клетками. На 15-й день ткань лишена отчетливого фолликулярного строения и обильно пронизана набухшими ретикулярными клетками, среди которых встречаются отдельные и группирующиеся небольшими кучками эпителиоидные клетки; попадают также плазматические клетки и эозинофилы; у одного животного ретикулярные и эпителиоидные клетки образуют мощные тяжи и островки, в центре которых иногда заметен некроз с распадом и сморщиванием клеточных ядер. На 22-й день в ткани узлов располагаются довольно крупные, четко очерченные очаги, представляющие собой участки густой инфильтрации ретикулярными, эпителиоидными и плазматическими клетками; у одного животного установлен резкий отек и наличие близ кровеносных сосудов в толще мякотных тяжей многочисленных



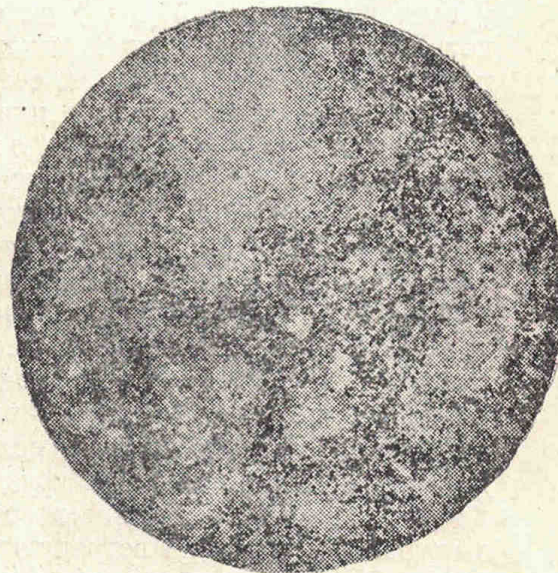
Микрофото 7. Воспалительный узелок близ бронха; 25 дней после аспирационного заражения; ув. 80 раз; окраска гематоксилин-эозином.



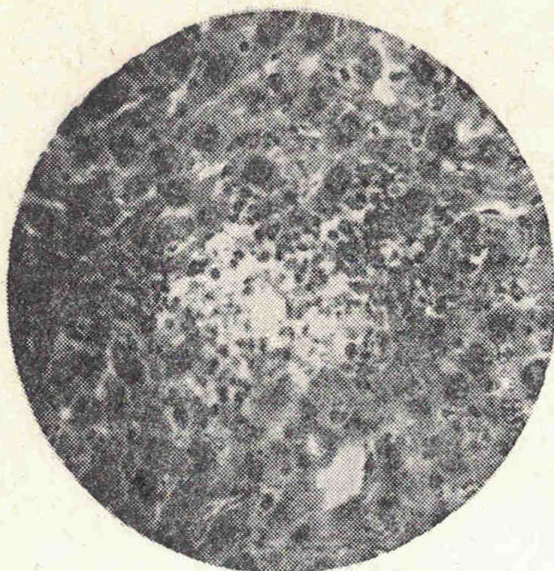
Микрофото 8. Очажок пролиферации ретикулярных и эпителиоидных клеток в бронхо-пульмональном лимфатическом узле; 25 дней после аспирационного заражения; ув. 280 раз; окраска гематоксилин-эозином.



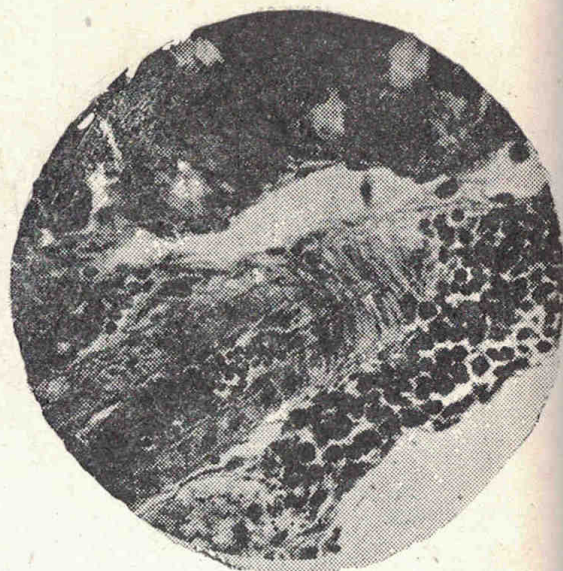
Микрофото 9. Воспалительный очажок в селезенке; 22 дня после аспирационного заражения; ув. 80 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 10. Очаговая пролиферация ретикулярных и эпителиоидных клеток в селезенке; 93 дня после аспирационного заражения; ув. 80 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 11. Воспалительный очажок в печени; 95 дней после аспирационного заражения; ув. 400 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 12. Инфильтрат в почке близ кровеносного сосуда; 149 дней после аспирационного заражения; ув. 400 раз; окраска гематоксилин-эозином.

плазматических клеток; имеющиеся здесь ретикулярные клетки и лимфоциты выглядят более или менее набухшими.

На 25—30-й день у всех животных установлена очаговая пролиферация ретикулярных и эпителиоидных клеток, образующих разбросанные повсеместно четко очерченные светлые очажки (микрофото 8); у одного животного инфильтрация эпителиоидными клетками занимает обширный участок и распространена за пределы узла — на его капсулу, а также на окружающую клетчатку; у всех животных обращает на себя внимание обилие в толще мякотных тяжей плазматических клеток; фолликулы резко увеличены или же дезорганизованы за счет пролиферации в их центре ретикулярных, эпителиоидных и плазматических клеток.

В подчелюстных лимфатических узлах уже через 2—6 часов после заражения наблюдается гиперемия и небольшое увеличение фолликулов. На 2-е сутки имеет место диффузная инфильтрация ткани набухшими ретикулярными клетками, местами образующими небольшие светлые островки. На 6-й день у одного животного установлена лишь гиперемия, а у остальных трех — наличие в корковом веществе очагов пролиферации ретикулярных и эпителиоидных клеток. На 5—9-й день это сочетается с увеличением в объеме составляющих мякотные тяжи ретикулярных клеток и лимфоцитов; у некоторых животных обращает на себя внимание гиперемия и диффузный отек ткани с более или менее значительным разобщением составляющих ее клеточных элементов; повсюду в ткани встречаются плазматические клетки и эозинофилы. На 15-й день установлена более или менее значительная гиперплазия фолликулов и ретикулярной ткани; при этом лимфоциты в своем большинстве увеличены в объеме и похожи по виду на плазматические клетки, а ретикулярные элементы диффузно инфильтрируют ткань, образуя небольшие скопления или островки;

у одного животного в ткани узла повсеместно разбросаны небольшие узелки, построенные из крупных ретикулярных и эпителиоидных клеток; некоторые из подобных узелков в центре инфильтрованы эозинофилами. На 22—30-й день гиперплазия фолликулов и ретикулярных элементов несколько более значительна; ткань содержит много плазматических клеток и инфильтрирована эозинофилами; повсюду видны кучки, тяжи и островки из крупных ретикулярных и эпителиоидных клеток; отмечается расширение мозговых синусов с заполнением их светлой жидкостью и клетками (ретикулярными, плазматическими, эндотелиальными).

В подмышечных лимфатических узлах до 4 суток после заражения сколько-нибудь отчетливых изменений отметить не удастся. С 5-го дня наблюдается гиперплазия фолликулов и пролиферация ретикулярных элементов, а также наличие в толще мякотных тяжей плазматических клеток. На 22-й день в ткани узлов встречаются очажки, построенные из крупных ретикулярных и эпителиоидных клеток, а у некоторых животных имеются очаги инфильтрации эпителиоидными и плазматическими клетками с примесью эозинофилов; наблюдается расширение синусов и заполнение их ретикуло-эндотелиальными элементами.

В подвздошных лимфатических узлах, начиная с 3—4-го дня, заметна небольшая ретикулярная гиперплазия, выражающаяся в диффузной инфильтрации ткани крупными одноядерными элементами. На 7-й день и позже указанные элементы образуют светлые, четко очерченные очажки; иногда же пролиферация этих элементов приобретает характер более или менее массивных очагов или же диффузной инфильтрации, обычно с участием в последней эпителиоидных клеток и эозинофилов; постоянно обращает на себя внимание набухший вид составляющих мякотные тяжи клеточных элементов с наличием здесь многочисленных плазматических клеток (главным образом близ кровеносных сосудов); синусы обычно заполнены жидкостью, лимфоцитами и крупными одноядерными клетками; фолликулы в той или иной степени увеличены, иногда довольно значительно.

В паховых лимфатических узлах в первые 3 дня также отчетливых изменений нет. На 4-й день у одного животного установлена незначительная, но отчетливо выраженная ретикулярная гиперплазия, на фоне которой обнаружен небольшой очажок из эпителиоидных клеток и расположенных в его центре полиморфноядерных лейкоцитов. На 5-й день у всех четырех животных ретикулярные клетки имеют набухший вид и увеличены в количестве, причем у одного животного эти элементы при участии эпителиоидных клеток образуют повсеместно разбросанные очажки; у другого животного представляется набухшим также эндотелий сосудов; утолщенные вследствие ретикулярной гиперплазии мякотные тяжи сближены и тесно прилегают один к другому, а содержащиеся в их толще лимфоциты представляются набухшими и более или менее приближаются по виду к плазматическим клеткам. На более поздних сроках на фоне ретикулярной гиперплазии у некоторых животных можно наблюдать неравномерную инфильтрацию ткани эпителиоидными и плазматическими клетками с примесью эозинофилов, местами приобретающую характер узелков; фолликулы в первые



дни имеют нормальную величину и вид, а затем (приблизительно с 15 по 30-й день) оказываются все более и более увеличенными; иногда при отсутствии заметных явлений гиперплазии и пролиферации имеет место гиперемия и диффузный отек ткани с расширением синусов и разобщением структурных элементов.

В селезенке в первые дни не удается отметить никаких изменений. На 5-й день имеет место увеличение в объеме фолликулов и полнокровие пульпы, иногда с наличием в последней очажков из крупных одноядерных клеток; кроме того, в пульпе разбросаны кучки своеобразных как бы набухших и чрезмерно базофильных лимфоцитов; лимфоциты, входящие в состав фолликулов, также выглядят несколько набухшими. На 7-й день фолликулы увеличены, рыхлы и расплывчаты, а у одного животного они при этом содержат кучки плазматических клеток; часто внутри фолликулов встречаются крупные одноядерные элементы со светлой протоплазмой; пульпа диффузно инфильтрирована лимфоцитами, плазматическими клетками и полиморфноядерными лейкоцитами, вследствие чего почти отсутствует разграничение ее на ретикулярные тяжи и синусы; у некоторых животных пульпа к тому же гиперемирована и пропитана серозной жидкостью. С 15 по 30-й день обнаруживаются пронизывающие пульпу очажки, построенные из крупных ретикулярных и эпителиоидных клеток; у одного животного эти очажки многочисленны и располагаются не только в пульпе, но и внутри фолликулов; эпителиоидные клетки, входящие в состав этих очажков, иногда группируются радиально, придавая последним характер узелков; обнаружен очажок (микрофото 9), в котором эпителиоидные клетки образуют компактный вал, охватывающий собой небольшое скопление мелких лимфоидных элементов; вышеотмеченные набухшие лимфоциты, располагающиеся небольшими кучками в пульпе, часто обнаруживают сходство с плазматическими клетками. Увеличение и расплывчатость фолликулов с пролиферацией в них ретикулярных, эпителиоидных и плазматических клеток в сочетании с пролиферативно-инфильтративными явлениями в пульпе нередко придают ткани селезенки весьма дезорганизованный вид.

В печени первые изменения состоят в дистрофии паренхимных элементов; последние уже через 3 дня после заражения несколько увеличены в объеме и лишены четких границ, а протоплазма их представляется более или менее зернистой. На 5—7-й день клетки паренхимы выглядят набухшими, границы их почти полностью стерты, причем протоплазма в центральной части долек содержит многочисленные капельки жира. На дальнейших сроках—вплоть до 30-го дня клетки паренхимы остаются более или менее набухшими, а протоплазма их зернистой или мелкочаеистой. Звездчатые элементы вначале выглядят набухшими (4—5-й день), а затем они неравномерно увеличены в количестве, образуя в разных местах небольшие кучки. По ходу кровеносных сосудов можно видеть скопления гистиоцитов, эпителиоидных и плазматических клеток, полиморфноядерных лейкоцитов. Свойственные белым мышам нормальные скопления лимфоидных элементов в печени<sup>1</sup> уве-

<sup>1</sup> Установлено личными наблюдениями автора на большом количестве животных.

личены в объеме, разрыхлены, содержат примесь плазматических клеток и эозинофилов.

В почках обычно отмечается умеренно выраженная зернистая дистрофия эпителия извитых канальцев первого порядка, заметная, начиная с 5 дня; у некоторых животных представляются набухшими и увеличенными в количестве клеточные элементы межуточной ткани; у одного животного установлена некоторая гиперемия клубочков.

В миокарде с 5-го дня после заражения можно наблюдать неясность поперечной исчерченности мышечных волокон в сочетании с тусклым видом их протоплазмы. С 22—25 дня представляются набухшими и неравномерно увеличенными в количестве клеточные элементы межуточной ткани; кроме того, у некоторых животных обнаружены близ кровеносных сосудов небольшие скопления гистиоцитов, лимфоцитов, полиморфноядерных лейкоцитов и плазматических клеток, хотя мышечные волокна в этих случаях изменены мало.

В надпочечниках клетки коркового и мозгового вещества, начиная с 7-го дня после заражения, иногда выглядят набухшими, протоплазма их имеет тусклый вид, нередко более или менее вакуолиста; наблюдается также увеличение в объеме ретикулоэндотелиальных элементов.

У животных, убитых на отдаленных сроках (92—149 дней после заражения), при гистологическом исследовании органов установлено следующее.

В легких довольно постоянно отмечается неравномерно выраженная диффузная межуточная инфильтрация за счет гистиоцитов, гистиоцитоподобных и эпителиоидных клеток, лимфоцитов и полиморфноядерных лейкоцитов; наибольшей густоты эта инфильтрация достигает близ кровеносных сосудов и бронхов, захватывая в той или иной степени их стенки. В отдельных участках имеет место гиперемия, которая иногда является очень резкой и сочетается с очагами пропитывания ткани серозной жидкостью; у одного животного обнаружены, кроме того, небольшие кровизлияния. Наблюдается, наконец, поражение плеврального покрова в форме утолщения его и инфильтрации клетками.

В лимфатических узлах имеет место распространенная гиперплазия ткани с очаговой пролиферацией ретикулярных и эпителиоидных клеток; иногда очаги пролиферации приобретают характер специфических узелков с вакуолизацией протоплазмы расположенных в их центре клеточных элементов и инфильтрацией здесь эозинофилами; попадаются обособленные скопления крупных ретикулярного типа одноядерных клеток с вакуолизированной протоплазмой, а также разбросанные повсюду своеобразные элементы с сегментированным ядром и объемистой однородного вида эозинофильной протоплазмой; наблюдается расширение синусов и заполнение их свободными ретикулярными клетками; как правило, встречаются многочисленные плазматические клетки; иногда имеет место гиперемия и отек ткани.

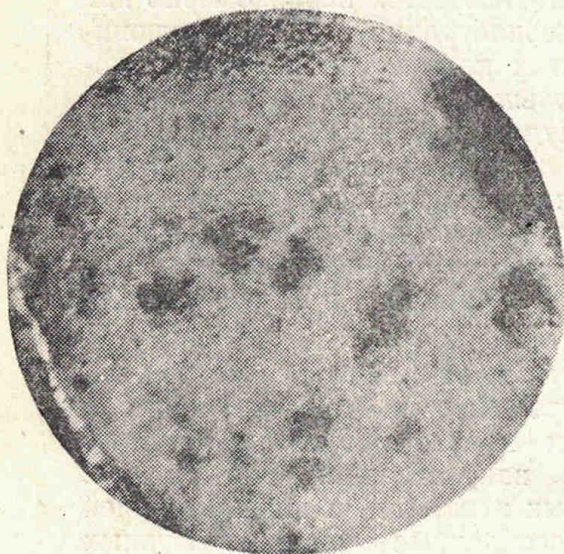
В селезенке отмечается гиперемия и резко выраженная гиперплазия пульпы с очаговой пролиферацией в ней ретикулярных и эпителиоидных клеток (микрофото 10); встречаются также очаги



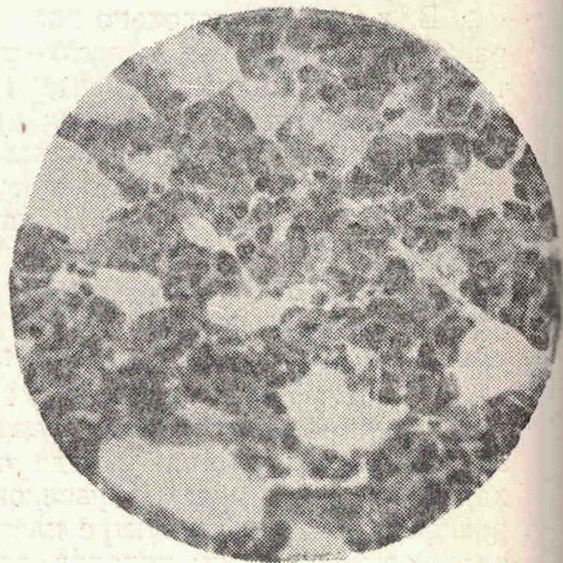
Микрофото 13. Воспалительный очажок в миокарде; 149 дней после аспирационного заражения; ув. 400 раз; окраска гематоксилин-пикрофуксином.



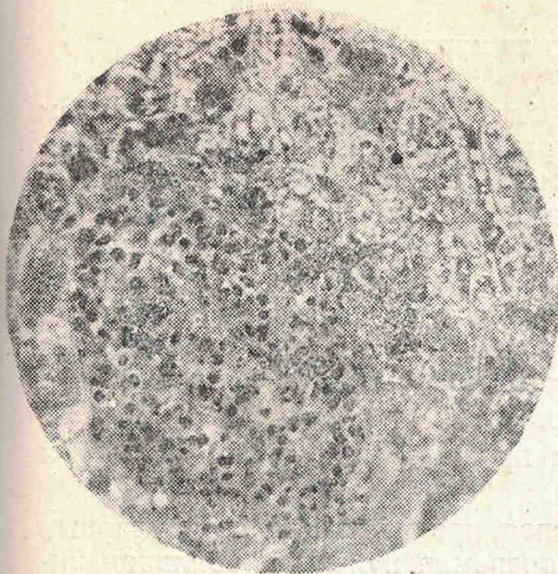
Микрофото 14. Многочисленные кокко-бациллы в области пневмонического очага у павшего животного; 198-й день после аспирационного заражения; ув. 600 раз; окраска гематоксилин-эозином.



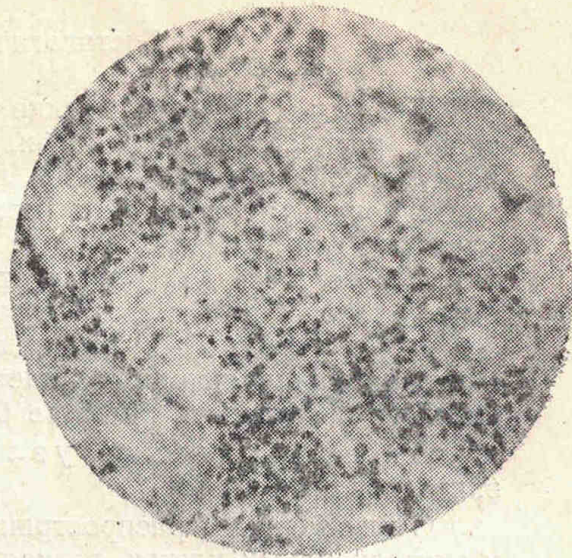
Микрофото 15. Микробные колонии в просвете кровеносного сосуда в легком у павшего животного; 198-й день после аспирационного заражения; ув. 280 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 16. Клеточная инфильтрация межальвеолярных перегородок легкого; 7 дней после подкожного заражения; ув. 600 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 17. Воспалительный очажок в печени; 28 дней после подкожного заражения; ув. 400 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 18. Клеточная инфильтрация межтубулярной ткани в почке; 10 дней после подкожного заражения; ув. 400 раз; окраска гематоксилин-эозином.

резкого отека ткани и вакуолизации ретикулярных клеток; установлена, наконец, воспалительная инфильтрация капсулы.

В печени имеет место значительная дистрофия паренхимы (увеличение клеток в объеме, неясность их границ, тусклость и ячеистость протоплазмы) и наличие разбросанных повсеместно, а чаще — близ кровеносных сосудов воспалительных очажков (микрофото 11), состоящих из лимфоцитов, гистиоцитов, эпителиоидных и плазматических клеток, полиморфноядерных лейкоцитов; паренхимные элементы в области очажков — в состоянии некробиоза (карио- и плазмолиз); некоторые очажки построены из эпителиоидных клеток и окружены лимфоцитами с полиморфноядерными лейкоцитами; в случаях расположения очажков близ кровеносных сосудов воспалительной инфильтрацией захвачены в той или иной степени их стенки; у некоторых животных отмеченные воспалительные очажки приобретают характер неравномерной диффузной инфильтрации паренхимы.

В почках установлена дистрофия эпителия извитых канальцев первого порядка и преобладающая близ клубочков и сосудов очаговая инфильтрация межтубулярной ткани (микрофото 12) за счет лимфоцитов, гистиоцитов, эпителиоидных и плазматических клеток, полиморфноядерных лейкоцитов.

В миокарде у одних животных никаких изменений нет; у других отмечается дистрофия мышечных волокон, которые при этом имеют набухший вид, лишены отчетливой поперечной исчерченности и иногда обнаруживают признаки глыбчатого распада протоплазмы; у некоторых животных можно наблюдать близ сосудов мелкоочаговую клеточную инфильтрацию межтубулярной ткани (микрофото 13).

У животных, которые на различных сроках после аспирационного заражения пали от болезни, при вскрытии установлена резкая гиперемия органов, припухший вид селезенки и печени и наличие в легких единичных небольших пневмонических очагов.

## Гистологическая картина

**Легкие:** пневмонические очаги с серозным пропитыванием ткани, распространенной инфильтрацией ее гистиоцитами и периваскулярной инфильтрацией лимфоидными, плазматическими и эпителиоидными клетками; местами группировка эпителиоидных клеток по типу узелков; иногда располагающиеся в глубине очагов и в просвете сосудов густые скопления мельчайших кокко-бацилл (микрофото 14 и 15); связь пневмонических очагов с кровеносными сосудами; у некоторых животных — гнойный экссудат в альвеолах и некроз составляющих его клеточных элементов, а также наличие гнойного экссудата в просвете бронхов.

**Лимфатические узлы:** пролиферация ретикулярных и эпителиоидных клеток.

**Селезенка:** распространенная пролиферация ретикулярных и эпителиоидных клеток, резкая гиперемия пульпы и обильная инфильтрация последней полиморфноядерными лейкоцитами.

**Печень:** значительно выраженная дистрофия паренхимы и очаговая инфильтрация ее лимфоцитами, гистиоцитами и плазматическими клетками; обилие лейкоцитов в просвете сосудов.

**Почки:** дистрофия эпителия канальцев, диффузная гиперемия, гиперемия клубочков.

**Миокард:** дистрофия мышечных волокон и иногда очаговая инфильтрация межуточной ткани (преимущественно близ сосудов) за счет лимфоцитов, плазматических клеток и гистиоцитов.

У животных, убитых на разных сроках после подкожного заражения, при вскрытии установлено следующее.

Легкие обычно никаких особенностей не имеют; изредка, начиная с 2-го дня после заражения, здесь наблюдается неравномерное полнокровие. Лимфатические узлы в той или иной степени, а в общем умеренно увеличены. Селезенка, начиная с 4-го дня, как правило, представляется слегка или заметно припухшей и иногда полнокровной. Печень у одних животных никаких особенностей не имеет, у других (начиная приблизительно с 7-го дня) она дрябловата и слегка тускла на разрезе; кроме того, иногда в этом органе встречаются единичные мелкие серовато-белые узелки. Остальные органы измененными не выглядят.

## Гистологическая картина

В легких, начиная с 1-х суток после заражения, имеет место неравномерно выраженная умеренная или обильная инфильтрация межальвеолярных перегородок — за счет гистиоцитов, гистиоцитоидных клеток, лимфоцитов, а также единичных эпителиоидных и плазматических клеток. На 2-е сутки у обоих убитых на этом сроке животных на фоне клеточной инфильтрации межальвеолярных перегородок повсеместно встречаются небольшие пневмонические очаги с более или менее резкой гиперемией ткани и пропитыванием ее серозной жидкостью. На 3-и сутки и на всех последующих сро-

как подобные пневмонические очаги не встречаются вовсе, а клеточная инфильтрация межальвеолярных перегородок (микрофото 16), остается то умеренной, то более или менее обильной до самых отдаленных сроков; иногда эта инфильтрация преобладает по ходу кровеносных сосудов, причем, как правило, характеризуется заметной примесью плазматических клеток; стенки сосудов при этом в наружных слоях также бывают инфильтрированы клетками; наблюдается заполнение клеточными элементами периваскулярных и перибронхиальных лимфатических пространств; у некоторых животных инфильтрация легочной ткани преобладает близ плеврального покрова, иногда с захватом и соответствующим утолщением последнего.

В лимфатических узлах (паховые, подвздошные, подмышечные и подчелюстные) уже через 6 часов после заражения отмечается увеличение в объеме фолликулов и диффузная неравномерная инфильтрация ткани ретикулярными клетками; начиная с 1-х суток и на всех последующих сроках, подобная лимфоидная и ретикулярная гиперплазия выражена более отчетливо, оказываясь иногда весьма значительной, причем на фоне ее наблюдается мелкоочаговая пролиферация крупных одноядерных клеток и эндотелия синусов; весьма постоянно обращает на себя внимание набухший вид составляющих мякотные мозговые тяжи клеточных элементов — в том числе лимфоцитов, которые при этом приобретают характер плазматических клеток; особенно отчетливо подобная плазматическая метоплазия выражена близ кровеносных сосудов; узелки типа гранулом не обнаружены.

В селезенке через 6 часов после заражения имеет место обильная и неравномерная инфильтрация ретикулярными и эпителиоидными клетками, образующими тяжи и очажки. Через 1 сутки после заражения ткань органа заметно гиперплазирована, причем у одного животного на фоне этой гиперплазии обнаружены окруженные лимфоцитами очажки пролиферации эпителиоидных клеток. С 4—5-го дня после заражения гиперплазия фолликулов и пульпы еще более отчетлива, в ткани много мегакариоцитов, и видны многочисленные, нередко сливные очажки из крупных одноядерных и эпителиоидных клеток. На отдаленных сроках (30 дней и позже) изменения в общем сохраняют тот же характер и приблизительно ту же степень выраженности, но очажки пролиферации клеток встречаются как будто реже. Грануломы в их типичном виде не обнаружены.

В печени на всех сроках имеет место дистрофия паренхимных элементов, выражающаяся в некотором увеличении их объема, неясности границ, тусклости протоплазмы и нередко мелкой вакуолистости последней — преимущественно в центре долек; кроме того, в ткани повсюду, а главным образом близ кровеносных сосудов, встречаются мелкие очажки (микрофото 17), построенные из гистиоцитов, эпителиоидных и плазматических клеток, лимфоцитов и эозинофилов; наибольшей выраженности эта инфильтрация достигает на 10—30-й день после заражения, сочетаясь при этом иногда с более или менее распространенной пролиферацией ретикуло-эндотелиальных элементов, образующих небольшие кучки и тяжи.

В почках установлена дистрофия эпителия извитых канальцев (главным образом первого порядка), сочетающаяся, начиная с 1-х суток после заражения, с то более, то менее отчетливо выраженной межуточной преимущественно периваскулярной инфильтрацией (микрофото 18) за счет эпителиоидных и плазматических клеток, гистиоцитов, лимфоцитов и эозинофилов.

В миокарде наряду с наблюдающейся на всех сроках дистрофией мышечных волокон (неясность или отсутствие поперечной исчерченности и некоторая тусклость протоплазмы) иногда (вне определенной зависимости от сроков вскрытия) отмечается набухший вид клеточных элементов межуточной ткани, местами с увеличением их в количестве, вплоть до образования явных гистиоцитарных инфильтратов.

В надпочечниках представляются дистрофически измененными клетки коркового вещества, которые при этом лишены четких границ, тускловаты на вид и содержат в протоплазме многочисленные довольно крупные вакуоли.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенные данные показывают, что у белых мышей в результате аспирационного заражения их бруцеллезом весьма рано развивается поражение легких, которое первоначально имеет характер очагов гиперемии и клеточной инфильтрации межальвеолярных перегородок. Расположение очагов в окружности бронхов, если учесть, что эти участки легочной ткани наиболее доступны для вдыхаемого воздуха, а также что при прочих равных условиях воспалительные изменения возникают скорее там, где присутствует болезнетворный агент, указывает на попадание вдыхаемых бруцелл в легочную ткань аэрогенным путем, т. е. из просвета альвеол<sup>1</sup>.

Едва ли можно считать, что бруцеллы внедряются в слизистую оболочку бронхов и отсюда достигают легочной ткани по току крови или по лимфатическим путям. Отсутствие на ранних сроках изменений в бронхах, в то время как в легочной ткани они уже имеются, говорит против этого.

Относить возникновение пневмонических очагов за счет внедрения микробов в слизистую оболочку верхних дыхательных путей с последующим заносом их в легкие гематогенным путем также нельзя, потому что тогда не поддается объяснению почти исключительное расположение очагов в окружности бронхов. Нет оснований и для того, чтобы рассматривать эти очаги как результат химического или механического воздействия на легочную ткань аспирированной бактериальной эмульсии, поскольку объем наносимой на ноздри животного жидкости для этого недостаточен.

Определенная последовательность в развитии пневмонических очагов и связь их со сроками вскрытия указывает на их специфическую природу. Весьма характерным для этой пневмонии является поражение кровеносных сосудов и наблюдающееся на поздних сроках поражение плеврального покрова.

<sup>1</sup> В этом отношении, видимо, существует определенная аналогия с вульгарной аспирационной пневмонией, возникновение которой, как известно, имеет в основе попадание при вдохе непосредственно в легкие инородного материала.

Установленное у некоторых животных заполнение просвета бронхов гнойным экссудатом, вполне сходным с альвеолярным экссудатом в области имеющих в этом случае пневмонических очагов, дает основание предполагать возможность попадания бруцелл из пораженных участков легких в окружающую среду, что может иметь соответствующее значение в смысле капельной передачи инфекции.

Сами по себе бронхи обнаруживают в отношении первичного поражения их бруцеллезом значительную устойчивость; что же касается часто наблюдающегося перибронхита, то он, несомненно, развивается вторично — в порядке перехода воспаления с прилегающей легочной ткани — как по соприкосновению, так, возможно, в результате предшествующего воспалительного поражения перибронхиальных лимфатических путей.

Пневмония как таковая, проявляя общую склонность к ликвидации, у отдельных животных остается до весьма отдаленных сроков — факт, который находится в соответствии со свойственной бруцеллезной инфекции хроничностью ее течения.

Из всех лимфатических узлов наиболее ранние изменения установлены в подчелюстных, что, по-видимому, указывает на имеющее место параллельное внедрение микробов в слизистую оболочку носовой полости, по отношению к которой эти узлы являются регионарными.

В бронхо-пульмональных лимфатических узлах изменения появляются несколько позже, чем в подчелюстных, но по степени своей выраженности им не уступают. Более позднее развитие изменений в этих узлах по сравнению с подчелюстными отчасти может быть объяснено тем, что на них не столь отчетливо выражено регионарное влияние инфекции, поскольку здесь на пути стоит такой мощный фагоцитарный барьер, каким является легочная ткань, в которой возбудитель частью блокируется развивающейся здесь воспалительной реакцией, частью в силу анатомо-физиологических особенностей легочной ткани (обширная площадь легко доступной капиллярной сети) попадает в кровь и разносится по организму.

Раннее обсеменение органов бруцеллами с убедительностью подтверждается нашими ранее установленными бактериологическими данными (Лорбер и Колесник) и, вероятно, является одной из причин сравнительно рано развивающихся изменений (5—7-й день) в отдаленных лимфатических узлах, где, однако, они менее существенны.

В селезенке изменения в общем по характеру совпадают с изменениями в лимфатических узлах и с течением времени обнаруживают склонность к усилению, представляя собой в наиболее выраженном виде свойственную бруцеллезу диффузную пролиферацию ретикуло-эндотелия с формированием специфических узелков.

Установленные в паренхиматозных органах дистрофические изменения с пролиферацией ретикуло-эндотелиальных элементов и образованием воспалительных очажков должны быть расценены как проявление развитой бруцеллезной инфекции.

При подкожном заражении, в отличие от аспирационного, изменения в органах возникают очень рано (уже спустя несколько



часов после введения культуры). Патоморфологическая картина болезни здесь с самого начала свидетельствует о генерализованной инфекции; развивающиеся при этом в легких клеточные инфильтраты и явления кратковременной воспалительной экссудации заметно уступают по частоте и степени выраженности воспалительным поражениям легких при аспирационном заражении и отличаются от них отсутствием заметной связи очагов с бронхами.

Изменения в прочих органах при подкожном заражении достигают своего наибольшего выражения намного раньше, чем это имеет место при аспирационном заражении, при котором приблизительно такая же степень поражения отдаленных органов может быть установлена только на поздних сроках.

Наблюдавшаяся по ходу опыта с аспирационным заражением гибель животных, как показывают данные вскрытия и гистологического исследования органов, имеет в основе резкое поражение легких с признаками септико-бактериемического течения инфекции. Весьма характерно, что при подкожном заражении, при котором поражение легких не преобладает в общей картине болезни, гибель животных вообще не имеет места. Это находится в полном соответствии с аналогичными данными по экспериментальной первичной туляремийной пневмонии (Колесник, 1947), согласно которым морские свинки, зараженные туляремией интратрахеально, гибнут скорее, чем свинки, зараженные подкожно. На этих примерах подтверждается то положение, что первичная специфическая пневмония при инфекции не только является обстоятельством, значительно отягощающим течение последней, но составляет в то же время одну из ее самых тяжелых форм.

#### ВЫВОДЫ

1. Развивающаяся у белых мышей при аспирационном заражении их высоковирулентной бруцеллезной культурой специфическая пневмония возникает как одно из самых первых проявлений болезни.

2. Экспериментальная аспирационная бруцеллезная пневмония у белых мышей протекает по типу затяжного экссудативного воспаления; при этом воспалительный процесс, развиваясь из небольших участков гиперемии и клеточной инфильтрации межальвеолярных перегородок в окружности бронхов, в дальнейшем приобретает характер более или менее крупных очагов типичной пневмонии с серозной и гнойной экссудацией; с течением времени, по мере ликвидации острых явлений воспаления, пневмония приобретает характер отчетливо выраженной затяжной клеточной инфильтрации с склонностью к образованию гранулом.

3. При аспирационной бруцеллезной пневмонии у белых мышей бронхи остаются непораженными или же поражаются в порядке перехода воспаления с прилегающей к ним воспаленной легочной ткани.

4. При аспирационном заражении белых мышей бруцеллезом вероятным местом внедрения микробов является слизистая оболочка носа и легочная ткань.

5. При аспирационном бруцеллезе у белых мышей специфические изменения в лимфатических узлах, селезенке, печени и других

органах значительно уступают таковым в легких и, в противоположность им, достигают своего наибольшего выражения на поздних сроках болезни.

6. Возникающие у белых мышей при подкожном заражении их бруцеллезом ранние воспалительные явления в легких кратковременны; наиболее постоянным типом изменений здесь является межочечная клеточная инфильтрация ткани.

---

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Каракулов И. К. Схема источников, возможных путей и способов заражения людей бруцеллезом. Известия Академии наук Казахской ССР, серия краевой патологии, вып. 5, 1951.
2. Колесник В. С. Патоморфология и патогенез экспериментальной первичной туляремийной пневмонии. Диссертация, 1947.
3. Котлярова Х. С. Бруцеллез. Медгиз, 1947.
4. Лорбер Б. Б. и Колесник В. С. Экспериментальный аспирационный бруцеллез у белых мышей. Известия Иркутского противочумного института, т. XI, 1953.
5. Целищев А. М. Особенности патогенеза бруцеллеза и роль патогенетической терапии. Труды Томского института эпидемиологии и микробиологии, т. IV, 1949.

Р. С. Колесник, Л. Е. Хунданов  
и А. П. Какоуров

### ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОРГАНОВ У ЛОШАДЕЙ — ПРОДУЦЕНТОВ ПРОТИВОХОЛЕРНОЙ СЫВОРОТКИ С ПОЛОЖИТЕЛЬНЫМИ РЕАКЦИЯМИ НА БРУЦЕЛЛЕЗ

Бруцеллез у сывороточных продуцентов является противопоказанием для их производственной эксплуатации. Отсюда понятно практическое значение вопроса о природе наблюдающихся у продуцентов противохолерной сыворотки положительных диагностических реакций на бруцеллез.

Материалом для настоящего сообщения послужили 5 лошадей-продуцентов противохолерной сыворотки, убитых по подозрению на бруцеллез (положительная реакция Райта и др.) на разных сроках производственной эксплуатации.

1. Лошадь Звездочка иммунизировалась поливалентным убитым холерным «ОН» антигеном; на II цикле эксплуатации при седьмой по счету проверке на бруцеллез (2 до начала эксплуатации и 5 по ходу таковой<sup>1</sup>) оказалась положительной реакция Райта (1 : 400 ++).

2. Лошадь Марта иммунизировалась убитым холерным «ОН» антигеном, после II цикла иммунизации очередная проверка на бруцеллез обнаружила положительную реакцию Райта (1 : 400 +), которая до этого была отрицательна.

3. Лошадь Букет иммунизировалась убитым холерным «О» антигеном; после II цикла иммунизации дала положительную реакцию Райта (1 : 400 ++++).

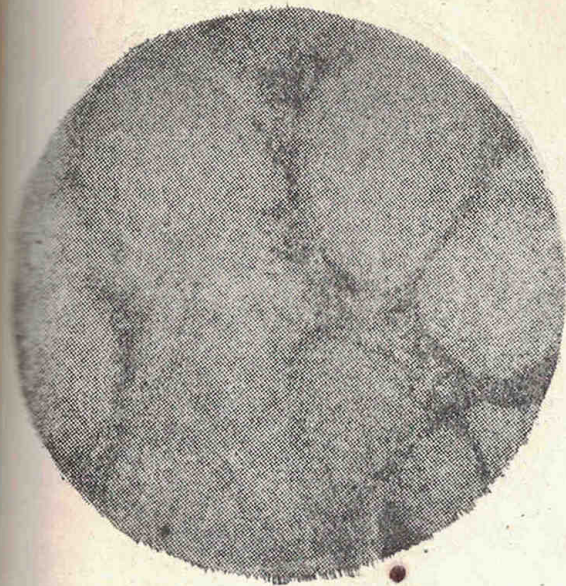
4. Лошадь Ураган иммунизировалась поливалентным убитым холерным «ОН» антигеном; после V цикла эксплуатации оказалась положительной реакция Райта (1 : 400 +) и реакция Бюрне (припухлость 5 × 5 см).

5. Лошадь Любимец иммунизировалась поливалентным убитым холерным «ОН» антигеном; после V цикла иммунизации установлена положительная реакция Райта (1 : 200 ++++) и реакция Бюрне (5 × 5 см).

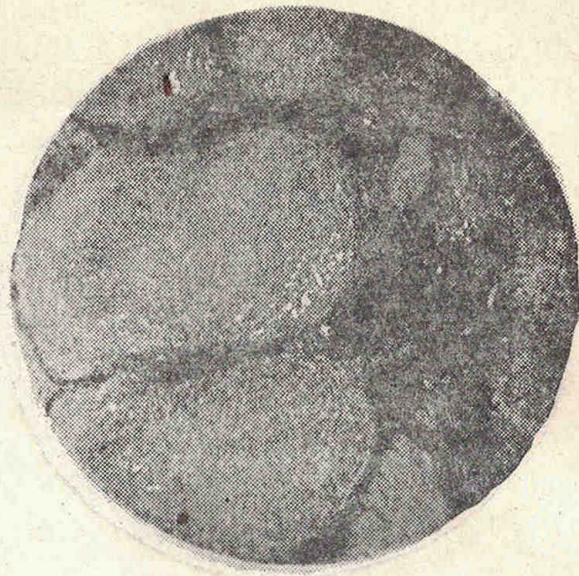
Каких-либо клинических признаков бруцеллеза ни у одного животного отметить не удалось.

При патологоанатомическом вскрытии убитых продуцентов установлено следующее: лимфатические узлы имеют совсем небольшую величину (1 × 1,5 см в диаметре) и бледнорозовый цвет с поверхности и на разрезе; селезенка у некоторых животных представляется слегка увеличенной, с несколько увеличенными фолликулами, при отсутствии каких-либо очаговых изменений, незначительном соскобе вещества и совершенно гладкой капсуле; печень,

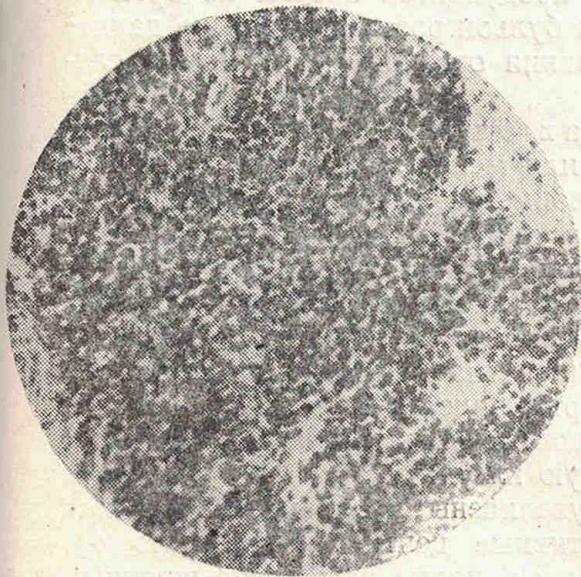
<sup>1</sup> Каждая очередная проверка производилась через 21 день после предыдущей.



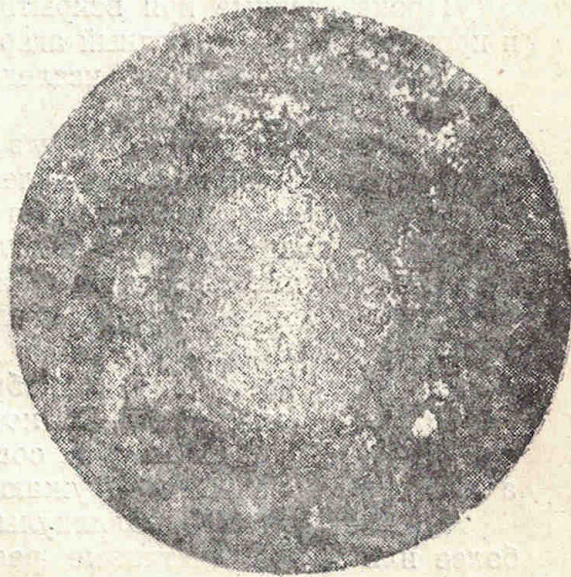
Микрофото 1. Лимфоидная гиперплазия в лимфатическом узле. Лошадь Звездочка, убитая после двух циклов эксплуатации. Ув. 56 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 2. Сильно увеличенные фолликулы при лимфоидной гиперплазии в лимфатическом узле. Лошадь Марта, убитая после двух циклов эксплуатации. Ув. 56 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 3. Многочисленные эозинофилы (см. зернистые элементы) в ткани лимфатического узла. Лошадь Любимец (5 циклов). Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 4. Гиперплазированный фолликул и ретикулярные тяжи пульпы в селезенке. Лошадь Букет (2 цикл). Ув. 56 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 5. Обилие эозинофилов (см. сегментоядерные зернистые элементы) в селезенке. Лошадь Любимец (5 циклов). Ув. 400 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 6. Клеточная инфильтрация межальвеолярных перегородок в легком. Лошадь Букет (2 цикл). Ув. 80 раз; окраска гематоксилин-эозином.

сердце, почки, надпочечники, желудок, кишечник и прочие органы никаких особенностей не имеют; в легких у всех животных на фоне совершенно нормальной ткани обращают на себя внимание разбросанные повсюду светлокрасные пятна типа свежих кровоизлияний.<sup>1</sup>

Произведенные при вскрытии продуцентов посевы из органов и крови на мясо-печеночный агар и бульон роста бруцелл не дали.<sup>2</sup>

При гистологическом исследовании органов<sup>3</sup> установлена следующая картина.

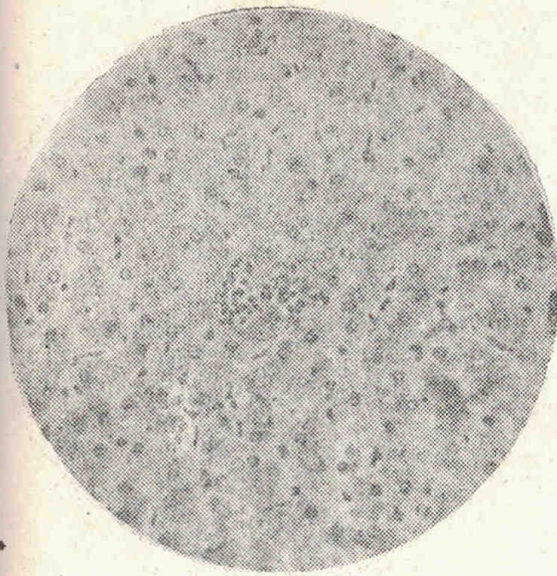
В лимфатических узлах отмечается гиперплазия фолликулов, которые при этом более или менее заметно увеличены в объеме, и отчетливо выделяются своим светлым видом (микрофото 1 и 2); за пределами фолликулов ткань узла густо пронизана набухшими лимфоцитами, ретикулярные элементы ткани также представляются немного набухшими, и количество их несколько увеличено, что более отчетливо выражено на поздних сроках эксплуатации; у всех животных обращает на себя внимание обилие эозинофилов (микрофото 3), которые заполняют синусы, группируются по ходу кровеносных сосудов, инфильтрируют ткань узла, а также его капсулу и окружающую клетчатку.

В селезенке фолликулы увеличены в объеме и содержат более или менее отчетливые реактивные центры (микрофото 4), причем на поздних циклах они имеют, кроме того, разрыхленный вид; составляющие пульпу ретикулярные тяжи заметно утолщены

<sup>1</sup> Результат аспирации крови при убое животных, подтверждаемый также заполнением свежей кровью просвета трахеи и бронхов.

<sup>2</sup> Эта часть работы выполнена бруцеллезной лабораторией института.

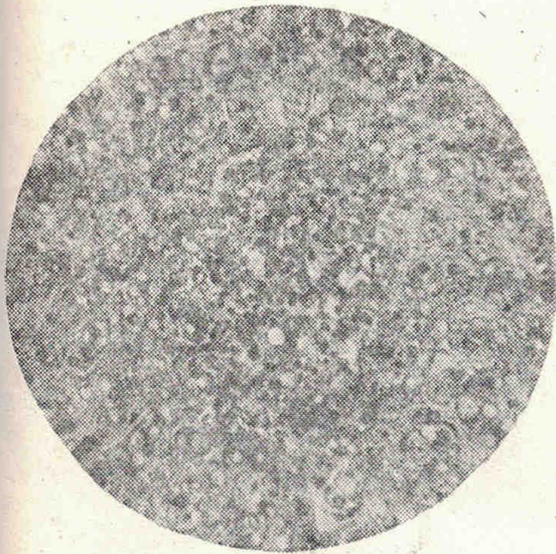
<sup>3</sup> Материал фиксировался в нейтральном формалине и заливался в цelloидин; срезы толщиной в 6 микрон красились гематоксилин-эозином и гематоксилин-пикрофуксином; кроме того, предпринималась окраска замороженных срезов печени суданом III на жир.



• Микрофото 7. Гиперплазия звездчатых клеток в печени и небольшое гнездовое скопление этих элементов внутри ее дольки. Лошадь Звездочка (2-й цикл). Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 8. Очажок пролиферации ретикуло-эндотелиальных элементов в печени. Лошадь Букет, убитая после двух циклов эксплуатации. Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-пикрофуксином.



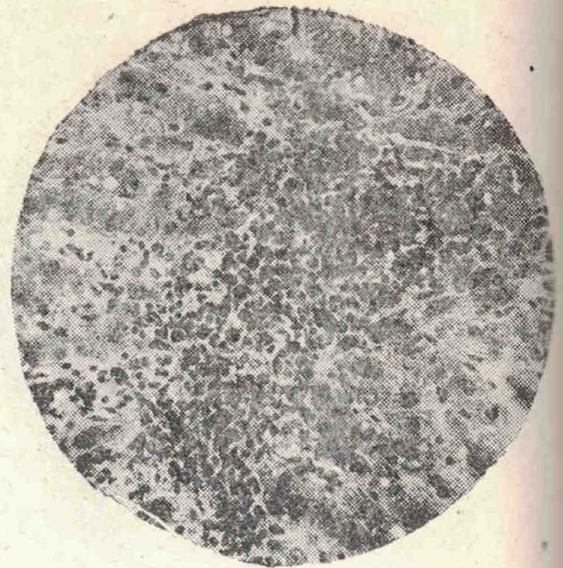
Микрофото 9. Очаговое скопление ретикуло-эндотелиальных элементов в печени на фоне жировой дистрофии ее паренхимы. Лошадь Любимец, убитая после пяти циклов эксплуатации. Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-эозином.



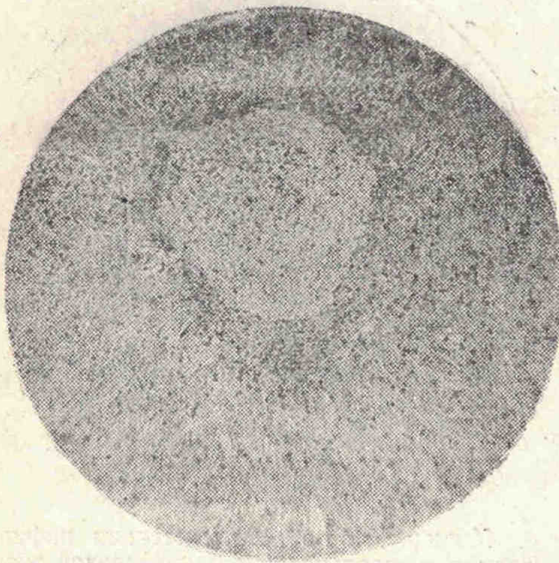
Микрофото 10. Клеточная инфильтрация междольковой соединительной ткани в печени. Лошадь Букет (2-й цикл). Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-эозином.



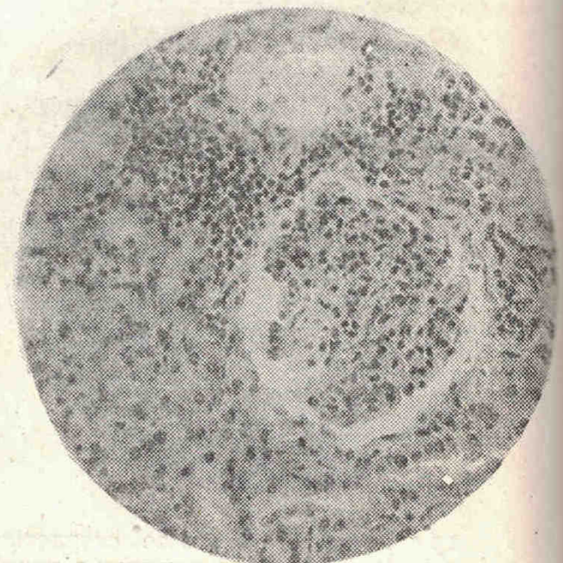
Микрофото 11. Междольковый клеточный инфильтрат в печени. Лошадь Ураган, убитая после пяти циклов эксплуатации. Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 12. Клеточный инфильтрат в междольковой соединительной ткани печени. Лошадь Любимец (5 циклов). Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-эозином.



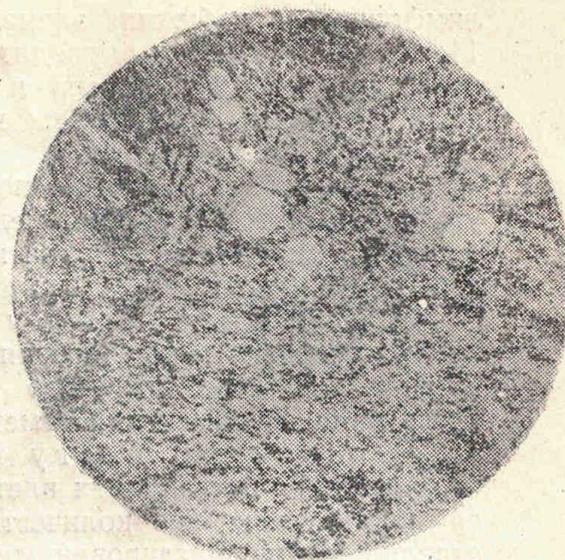
Микрофото 13. Очаговая пролиферация клеточных элементов наружной оболочки вены в печени. Лошадь Звездочка (2-й цикл). Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-пикрофуксином.



Микрофото 14. Клеточный инфильтрат в почке близ клубочка. Лошадь Любимец (5 циклов). Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 15. Клеточный инфильтрат в миокарде. Лошадь Марта (2-й цикл). Ув. 280 раз; окраска гематоксилин-эозином.



Микрофото 16. Распространенная инфильтрация эозинофилами в клетчатке солнечного сплетения. Лошадь Марта (2-й цикл). Ув. 80 раз; окраска гематоксилин-эозином.

и сближены между собой, вследствие чего венозные синусы представляются соответственно суженными; повсюду пульпа пронизана эозинофилами (микрофото 5), особенно многочисленными на поздних циклах эксплуатации животных; очаговых изменений (например, воспалительной пролиферации ретикуло-эндотелия) не обнаружено.

В легких местах наблюдается умеренная инфильтрация межальвеолярных перегородок (микрофото 6) гистиоцитами, эпителиоидными клетками и лимфоцитами, более постоянная на поздних циклах эксплуатации.

В печени отмечается диффузная гиперплазия звездчатых клеток и эндотелия капилляров с образованием внутри долек часто встречающихся более или менее крупных очажков, построенных по типу\* гнездового скопления ретикуло-эндотелиальных элементов (микрофото 7, 8 и 9); подобные же инфильтраты, но более крупные, располагаются в междольковой соединительной ткани (микрофото 10, 11 и 12), где в клеточном составе их, кроме того, содержатся лимфоциты, гистиоциты, эпителиоидные элементы и эозинофилы; как правило, междольковая инфильтрация преобладает по ходу кровеносных сосудов и желчных ходов; изредка в стенках сосудов, в том числе внутридольковых, можно наблюдать мелкоочаговую пролиферацию клеточных элементов их наружной оболочки (микрофото 13); паренхимные элементы органа у двух животных представляются дистрофически измененными: увеличение в объеме, нечеткость границ, тускловатый вид протоплазмы, наличие в последней жировых включений (преимущественно в центре долек); у остальных животных паренхима выглядит нормальной.

В почках изредка встречаются располагающиеся по преимуществу близ сосудов и клубочков небольшие инфильтраты из



лимфоцитов и набухших элементов межуточной ткани (микрофото 14); у трех животных выглядит дистрофически измененным (слегка набухший вид протоплазмы и неотчетливость клеточных границ) эпителий извитых канальцев; иногда можно наблюдать гиперплазию эндотелия клубочков.

В миокарде также попадают располагающиеся в межуточной ткани небольшие мелкоклеточные инфильтраты (микрофото 15); мышечные волокна иногда лишены отчетливой поперечной исчерченности.

В надпочечниках у одного животного установлена слабо выраженная мелкоочаговая пролиферация ретикуло-эндотелиальных элементов мозгового вещества; у остальных животных здесь никаких изменений отметить не удается.

В головном мозгу выглядит слегка тусклой протоплазма некоторых ганглиозных клеток; независимо от этого наблюдается также увеличение количества клеток-сателлитов; иногда представляется гиперплазированным эндотелий капилляров.

В вегетативных ганглиях отчетливых изменений нет; в области солнечного сплетения при отсутствии изменений в самих нервных элементах наблюдается обильная инфильтрация эозинофилами окружающей клетчатки (микрофото 16).

В костном мозгу обращает на себя внимание обилие клеточных элементов с эозинофильной зернистостью в протоплазме.

При вскрытии одного из продуцентов (Звездочка) была произведена биопроба — подкожное введение стерильно приготовленной эмульсии из органов продуцента (лимфатические узлы, селезенка, печень) двум морским свинкам и пяти белым мышам. Все биопробные животные не обнаружили ни малейших признаков заболевания, а спустя 44 дня после введения эмульсий были захлороформированы и вскрыты. При этом ни у одного животного сколько-нибудь подозрительных в смысле бруцеллеза патологоанатомических изменений не оказалось. Посевы из органов и крови на мясопеченочный агар и бульон также роста бруцелл не дали. Ничего характерного для бруцеллеза не отмечено и при гистологическом исследовании материала.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установленные у лошадей-продуцентов патоморфологические изменения представляют собой сочетание гиперплазии элементов ретикуло-эндотелиальной системы и межуточной воспалительной инфильтрации органов с умеренно выраженной дистрофией их паренхимных элементов.

Отсутствие в лимфатических узлах и селезенке свойственной бруцеллезу очаговой воспалительной пролиферации клеток и образования специфических гранулом дает основание сомневаться в бруцеллезной природе установленных изменений. Это подкрепляется также отрицательным результатом посева из органов и крови на бруцеллы и отрицательным результатом биологической пробы на морских свинках и белых мышах.

Отмеченная у животных воспалительная инфильтрация органов по своему характеру и степени выраженности вполне совпадает с

таковой у лошадей-продуцентов противочумной сыворотки.<sup>1</sup> Кроме того, как видно из описаний, она обнаруживает зависимость от сроков эксплуатации. Все это позволяет рассматривать эту инфильтрацию как результат гипериммунизации холерным антигеном.

Наблюдающаяся у животных обильная эозинофилия органов, по-видимому, находится в патогенетической связи с происходящей в организме животных вследствие их повторной гипериммунизации аллергической перестройкой. В отличие от примеси эозинофилов в воспалительных инфильтратах при бруцеллезе эта эозинофилия наблюдается сама по себе, без всяких признаков воспаления, и, вероятно, имеет в основе усиленную продукцию эозинофилов в кровеносных органах.

Предположение об иммунизаторной природе установленных у продуцентов изменений в органах находится в полном соответствии с тем фактом, что положительные реакции на бруцеллез у них обнаруживают связь с иммунизацией, проявляясь спустя тот или иной срок после ее начала.

Иммунизационная природа этих реакций еще более наглядно выявилась у одной нашей лошади (Ромашка), которая, несмотря на наличие у нее положительных на бруцеллез реакций, продолжала служить продуцентом противохолерной сыворотки. Эта лошадь обнаружила положительную реакцию Райта только на 15-й день первого цикла иммунизации, после третьего введения антигена, причем титр реакции оказался 1:50 + + + +, 1:100 + + + +, 1:200 + + +. После 10-дневного «отдыха» животного (перед кровозятием) титр реакции стал несколько ниже, а именно: 1:50 + + + +, 1:100 + + + +, 1:200 + + +.

Через 5 дней после первого кровозятия (в период «отдыха») титр реакции стал еще ниже: 1:50 + + + +, 1:100 + + + +, 1:200 +.

На 35-й день в период «отдыха» (после второго кровозятия) титр снизился до следующих цифр: 1:50 + + + +, 1:100 + +, 1:200 —.

На 10-й день второго цикла (перед вторым введением антигена) реакция агглютинации на бруцеллез снова повысилась и стала положительной: в разведении 1:200 + + + +, 1:400 + + +.

На 15 и 20-й день (перед третьим и четвертым введением антигена) получен тот же результат.

На 25-й день (перед пятым введением антигена) титр реакции равнялся 1:200 + + + +, 1:400 + + + +, 1:800 + +.

На 30-й день (перед шестым введением антигена) титр реакции несколько снизился, а именно: 1:100 + + + +, 1:200 + + + +, 1:400 + + + +, 1:800 ±.

На 39-й день (после 9-дневного «отдыха», перед кровозятием) титр реакции стал еще более низким: 1:50 + + + +, 1:100 + + + +, 1:200 + + + +, 1:400 + +, 1:800 —.

На 45-й день (после второго кровозятия, продолжающийся период «отдыха») титр реакции снизился до 1:50 + + + +, 1:100 + +, 1:200 ±.

На 5-й день третьего цикла (после 25-дневного «отдыха», перед первым введением антигена) титр реакции равен: 1:100 + +, 1:200 —.

На 10-й день третьего цикла (перед вторым введением антигена) титр реакции агглютинации опять повысился и составляет: 1:50 + + + +, 1:100 + + + +, 1:200 +, 1:400 ±.

На 15-й день (перед третьим введением антигена) титр реакции стал еще выше: 1:50 + + + +, 1:100 + + + +, 1:200 + +, 1:400 +, 1:800 ±.

На 20-й день (перед четвертым введением антигена) титр реакции равен: 1:100 + + + +, 1:200 + + + +, 1:400 + +, 1:800 +, 1:1600 +.

На 30-й день (после 10-дневного «отдыха», перед кровозятием) титр составляет: 1:100 + + + +, 1:200 + + + +, 1:400 + +, 1:800 +, 1:1600 —.

На 75-й день (после 55-дневного «отдыха») титр реакции снизился до 1:50 + +, 1:100 +.

На 150-й день (после 130-дневного «отдыха») реакция отрицательна.

<sup>1</sup> Р. С. Колесник и Л. Е. Хунданов. Патоморфологические изменения органов у лошадей-продуцентов противочумных сывороток. Известия Иркутского противочумного института, т. XI, 1953.

Гораздо более высокий титр у этой лошади показала реакция агглютинации с самым холерным антигеном, давшая соответственно следующие показатели:

15-й день первого цикла — 1:1600 + + + +, 1:3200 + + +, 1:6400 + +.  
25-й день (после 10-дневного «отдыха», перед кровозятием) — 1:1600 + + + +, 1:3200 + +, 1:6400 + +.

35-й день (после второго кровозятия, продолжающийся период «отдыха») — 1:800 + + + +, 1:1600 + + +, 1:3200 + +.

10-й день второго цикла (перед вторым введением антигена) — 1:3200 + + + +, 1:6400 ±.

25 и 30-й день (перед пятым и шестым введением антигена) — 1:800 + + + +, 1:1600 + + +, 1:3200 + + +, 1:6400 + +.

39-й день (после 9-дневного «отдыха», перед кровозятием) титр реакции на том же уровне.

5-й день третьего цикла (после 25-дневного «отдыха», перед первым введением антигена) — 1:200 + + + +, 1:400 + +, 1:800 +.

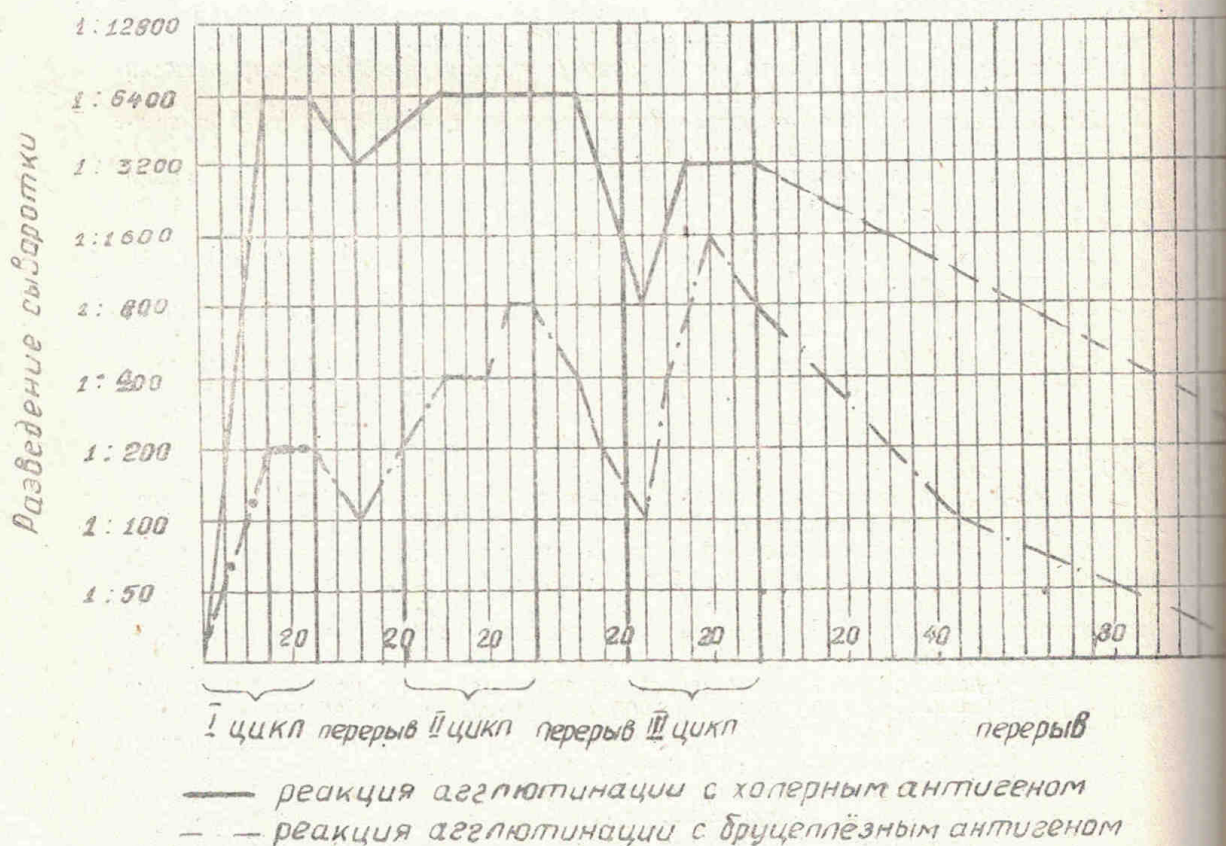
10-й день этого цикла (перед вторым введением антигена) — 1:200 + + + +, 1:400 + + +, 1:800 + + +, 1:1600 ±.

15-й день (перед третьим введением антигена) — 1:800 + + + +, 1:1600 + +, 1:3200 +.

30-й день (после 10-дневного «отдыха») — реакция на том же уровне.<sup>1</sup>

Кривая повышения и понижения титра (см. график) с холерным антигеном в общем повторяет закономерность кривой для реакции агглютинации на бруцеллез, но представляется более устойчивой.<sup>2</sup>

Динамика реакций агглютинации у продуцента „Ромашка“



<sup>1</sup> Реакция агглютинации с холерным антигеном на последующих сроках не ставилась по техническим причинам.

<sup>2</sup> В последней части графика (после 30-го дня третьего цикла) кривая холерного антигена проведена по аналогии с экспериментальными данными о бруцеллезном антигене.

Вопрос о природе положительных реакций на бруцеллез у продуцентов противохолерной сыворотки наводит на предположение о наличии у бруцелл и холерных вибрионов общего антигена.

В этом отношении представляют интерес установленные Эйзелем с соавторами (3), а также Вонгом и Шоу<sup>1</sup> данные о том, что сыворотки людей, вакцинированных против холеры, агглютинируют в довольно больших разведениях (1:40—1:160) и бруцеллы.<sup>2</sup>

Галлю (2) причину подобной параагглютинации усматривает в общности для холерного вибриона и бруцеллезного микроба «О» антигена.

В этом же отношении Стенфильдом с соавторами (4) установлено следующее.

1. У подозрительных на бруцеллез лиц положительная реакция агглютинации получается не только с бруцеллами, но и с холерными вибрионами, причем при абсорбции сыворотки бруцеллезным антигеном из нее удаляются как бруцеллезные агглютинины, так и холерные, а при абсорбции холерной вакциной становится гораздо меньше бруцеллезных агглютининов.

2. У иммунизированных бруцеллезным антигеном кроликов в крови обнаруживаются агглютинины к бруцеллам и холерным вибрионам, причем при абсорбции сыворотки бруцеллезным антигеном бруцеллезные агглютинины удаляются, холерные остаются, а при абсорбции холерным антигеном удаляются те и другие агглютинины.

Положительную реакцию агглютинации на бруцеллез (разведение 1:10, 1:25) наблюдал также Волик (1) у лошадей и других животных, служивших для получения сыворотки против рожи свиней, паратифа свиней и телят, сибирской язвы, оспы овец и других заболеваний.

Все приведенные данные показывают, что положительная реакция агглютинации на бруцеллез (а равным образом и аллергическая кожная проба) у продуцентов противохолерной сыворотки сопряжена с производственной гипериммунизацией. Учитывая, что установленная у животных патоморфологическая картина не включает в себе определенных данных, указывающих на бруцеллез, а также что биопроба дала в этом отношении отрицательный результат, можно полагать, что и реакция агглютинации здесь не может свидетельствовать о бруцеллезе.

<sup>1</sup> Цит. по Галлю (2).

<sup>2</sup> В связи с этим указанные авторы предупреждают о необходимости большой осторожности при диагностике бруцеллеза по положительным реакциям агглютинации с бруцеллезным антигеном.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Волик Е. К. Диагностика бруцеллеза у животных-продуцентов. Труды государственного научно-контрольного института ветеринарных препаратов, т. 3, 1952, стр. 92.

2. Gallat I. Антигенные отношения между холерным вибрионом и бруцеллами. Реферат. ЖМЭИ, 1951, № 8, стр. 87.

3. G. W. Eisele, G. B. McGullough, G. A. Beal et. W. Rottschaefer. Brucella agglutination tests and vaccination against cholera. Bulletin L'Institut Pasteur, T. 47, 1949, № 8.

4. Stanfield. C. A., Taylor W. a. Morgan H. K.

Некоторые антигенные соотношения при серологическом диагнозе бруцеллеза. Amer. J. clin. Path., v. 22, 1952, № 3, p. 211. Реферат. ЖМЭИ, 1953, № 11, стр. 86.

Б. А. Ерман

## РЕЗУЛЬТАТ ИССЛЕДОВАНИЯ НА БРУЦЕЛЛЕЗ КЛЕЩЕЙ DERMASENTOR NUTTALLI, СОБРАННЫХ В ЧИТИНСКОЙ ОБЛАСТИ

*(Предварительное сообщение)*

В литературе имеются сообщения Самсонова (1940), Степанова (1940), Галузо, Балдициной и Қайтмазовой (1944), Ременцевой и Кусова (1950), Ременцевой (1951), Пинигина (1954), Притулина (1954) о способности некоторых видов клещей к бруцеллоносительству в природе.

Для нас представляло интерес выяснить роль клеща *Dermasentor nuttalli* в сохранении возбудителя бруцеллеза в природе, поскольку этот клещ широко распространен в очагах бруцеллеза Читинской области.

В доступной нам литературе по этому вопросу имеются работы Пинигина (1954), Притулина (1954), Теленкова с соавторами (1954), а также экспериментальные работы Алтаревой, Емельяновой, Пинигина (1953) и Емельяновой, Пинигина (1953).

Пинигину через биопробу из клещей *Dermasentor nuttalli*, собранных в очагах бруцеллеза (всего он исследовал 6252 клеща), удалось выделить одну культуру бруцелл, и сыворотки семи свинок, зараженных суспензией клещей, дали положительные серологические реакции Райта и Хеддльсона.

Притулину удалось заразить морских свинок бруцеллезом путем подсадки к ним клещей *Dermasentor nuttalli*, снятых с больных бруцеллезом животных. Всего он исследовал 120 клещей.

Теленков с соавторами исследовал несколько сот клещей *Dermasentor nuttalli* с отрицательным результатом.

В эксперименте Алтарева, Емельянова, Пинигин показали, что клещи *Dermasentor nuttalli* заражаются бруцеллезом при кормлении их на зараженных массивными дозами бруцеллезной инфекции морских свинок. Клещи сохраняют возбудителя бруцеллеза до 170—291-го дня, а выделенные от них культуры в подавляющем большинстве случаев не отличаются от исходных.

С целью найти клещей *Dermasentor nuttalli*, зараженных бруцеллами в природе, нами в 1954—1955 гг. были поставлены следующие опыты.

В мае 1954 г. во время окота в четырех хозяйствах, неблагополучных по бруцеллезу, с домашних животных были собраны клещи. Эти хозяйства в течение многих лет являлись очагами активного и массивного бруцеллеза. Ежегодно наблюдались массовые

аборты среди овец, а также выделялись десятки и сотни положительно реагирующих на бруцеллез животных.

Клещи, предназначенные для исследования, тщательно обеззараживались с поверхности, затем разрезались ножницами и растирались в стерильной ступке в равномерную суспензию на физиологическом растворе. Один миллилитр суспензии вводился подкожно в область правого паха морской свинке. На одну биопробу готовилась суспензия в среднем из 100 клещей.

В опыт брались отрицательно реагирующие на бруцеллез морские свинки. На 30-й день после заражения они проверялись по реакции Райта (кровь бралась из сердца) и реакции Бюрнэ. Реакция Райта ставилась в разведениях от 1 : 40 до 1 : 320. На 31-й день после заражения свинки вскрывались.

Из паховых, подмышечных, шейных и парааортальных лимфатических узлов правой стороны тела, а также печени, селезенки, мочи и костного мозга производился бактериологический высев на скошенный в пробирке печеночный агар. Пробирки заливались воском и выдерживались 30 суток при температуре +37°. Посевы просматривались через каждые четыре дня.

Всего в 1954 г. было собрано и исследовано 1123 клеща, в числе которых 717 клещей были сняты с овец и 406 клещей с крупного рогатого скота. От клещей было поставлено 12 биопроб.

Следует сказать, что четыре свинки мы не смогли проверить по реакции Райта и Бюрнэ, так как три свинки на 30-е сутки пали, а у одной кровь взять не удалось.

Как показали результаты исследований 1954 г., ни в одном случае выделить бруцеллезную культуру от морских свинок, зараженных суспензий клещей, нам не удалось.

Реакция Бюрнэ у всех 8 свинок была отрицательной.

На реакцию Райта сыворотки двух свинок реагировали положительно в разведениях до 1 : 160 и 1 : 80, а сыворотки остальных шести свинок реагировали отрицательно.

В 1955 г. мы продолжали наши исследования. С этой целью была выбрана одна бруцеллезная маточная отара в 800 голов. С 10 марта по 10 апреля в отаре было 28 аборт брцуеллезной этиологии, подтвержденной нами бактериологически.

Во время окота, который продолжался с 1 мая по 1 июня, у 50 овцематок были мертворожденные и нежизнеспособные плоды.

Интересно отметить, что среди рабочих, обслуживавших эту отару, в мае 1955 г. было два свежих случая бруцеллеза.

Появление клещей на овцах зарегистрировано с 15 апреля. 28 апреля и 19 мая нами было собрано с 28 абортировавших овец 406 клещей (145 напившихся), с 30 овец, у которых были мертворожденные и нежизнеспособные плоды, — 551 клещ (172 напившихся) и с 70 нормально окотившихся овец — 407 клещей (171 напившийся).

Кроме того, весной 1955 г. с крупного рогатого скота на скотопрогонной базе было снято 92 клеща.

В методику исследования клещей на бруцеллоносительство по сравнению с 1954 г. были внесены следующие изменения.

На одну биопробу бралось в среднем 50 клещей. Заражение свинок производилось путем введения в обе паховые области подкожно суспензии клещей (в среднем 4—7 мл). Оставшаяся суспен-

зия (0,5—1 мл) закапывалась в оба глаза (по одной капле); втиралась в скарифицированную кожу (5—6 капель), и остаток вливался свинке в рот. Остатки клещей в ступке помещались в кормушку.

Свинки проверялись по реакции Райта в разведениях 1:5 до 1:320, а также по реакции Хеддльсона.

Высев из органов производился палочками.

Если зараженная свинка погибала (таких свинок было 6 штук), то она исследовалась бактериологически по обычной методике. Кроме того, из всех ее органов готовилась суспензия, которой заражалась свежая свинка. Исследование пассажной свинки производилось через месяц обычным способом.

Во всем остальном методика исследования клещей в 1955 г. была такой же, как и в 1954 г.

Всего в 1955 г. было поставлено 35 биопроб вместе с пассажными от 1456 клещей.

Ни в одном случае ни серологически (реакция Хеддльсона, Райта), ни аллергически (реакция Бюрнэ), ни бактериологически подтвердить наличие бруцеллеза у морских свинок, зараженных суспензией клещей, нам не удалось.

#### ВЫВОДЫ

1. В течение 1954—1955 гг. было исследовано через биопробу на бруцеллоносительство 2579 клещей *Dermacentor nuttalli*, собранных в отарах (стадах), неблагополучных по бруцеллезу в течение многих лет. Ни в одном случае бактериологически подтвердить наличие в клещах возбудителя бруцеллеза нам не удалось. Лишь у двух свинок были положительные реакции Райта в разведениях до 1:160 и до 1:80. У остальных проверенных нами свинок серологические и аллергические реакции были отрицательными.

2. Полученные нами данные говорят о том, что в природе встречается незначительный процент зараженных бруцеллами клещей *Dermacentor nuttalli*.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Алтарева Н. Д., Емельянова Н. Д., Пинигин А. Ф. О хранении возбудителя бруцеллеза взрослыми клещами *Dermacentor nuttalli* в экспериментальных условиях. Сообщение I. Известия Иркутского гос. противочумного института, т. XI, 1953.

2. Галузо И. Г., Балдицина К. С., Кайтмазова Е. И. Исходные клещи — возможные переносчики бруцеллеза. Сборник статей по паразитологии. Известия Казахского филиала АН СССР, серия зоологическая, вып. III, 1944.

3. Емельянова Н. Д., Пинигин А. Ф. Изучение клеща *Dermacentor nuttalli* как переносчика бруцеллеза в условиях опыта. Сообщение II. Известия Иркутского гос. противочумного института, т. XI, 1953.

4. Пинигин А. Ф. Длиннохвостый суслик *Citellus undulatus* и клещ *Dermacentor nuttalli* в условиях Восточной Сибири в связи с проблемой бруцеллеза. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Иркутск, 1954.

5. Притулин П. И. О передаче бруцеллеза пастбищными клещами *Dermacentor nuttalli* и *Hyalomma marginatum*. «Ветеринария», 1954, № 7, стр. 31.



6. Ременцева М. М. О роли клещей в распространении бруцеллеза. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Институт зоологии АН Каз. ССР, Алма-Ата, 1951.
7. Ременцева М. М. и Кусов В. Н. К вопросу о роли клещей *Ornithodoros lahorensis* в распространении бруцеллеза. Известия АН Каз. ССР, № 75, серия паразитологическая, вып. 8. Алма-Ата, 1950.
8. Самсонов П. Ф. Клещи как носители и передатчики бруцеллеза. Тезисы докладов на совещании по борьбе с бруцеллезом. М., 1940.
9. Степанов Н. Н. К эпидемиологии бруцеллеза в Туркмении. «Советское здравоохранение Туркмении», 1940, № 4—5, стр. 101.
10. Теленков П. Ф., Кислицына Л. И., Голосова З. Н. К вопросу о природной очаговости бруцеллеза. Конференция, посвященная итогам работы Читинского института эпидем., микробиол. и гигиены за 1954 год. Авторефераты докладов. Чита, 1955.

Л. Е. Хунданов, Е. И. Лясковская,  
В. Я. Михалева, А. П. Калмыкова

## ГАММА- И БЕТА-ГЛОБУЛИНЫ ПРОТИВОЧУМНОЙ СЫВОРОТКИ И ИЗУЧЕНИЕ ИХ ЭФФЕКТИВНОСТИ

(Сообщение первое)

Процесс иммунизации животных сопровождается видоизменением нормального глобулина сыворотки, приводящим к образованию сенсibilизированного иммунного глобулина.

Из иммунных глобулинов сыворотки терапевтически активными фракциями являются гамма- и бета-глобулины. Указанные фракции в сыворотках иммунизированных животных содержатся в значительно большем количестве, чем в сыворотках нормальных животных. Так, например, в антипневмококковой сыворотке кролика гамма-глобулины составляют 56% общего количества белков, а в нормальной сыворотке около 17%. Количество гамма- и бета-глобулинов в крови увеличивается при иммунизации других животных, например, обезьян. По новейшим же данным иммунные сыворотки животных содержат иногда совершенно новые виды белка, качественно отличные от обычных глобулинов сыворотки. Они относятся к так называемым Т-глобулинам.

Следовательно, иммунные тела сыворотки крови связаны не со всеми фракциями белка, а лишь с некоторыми из них. В связи с этим, вопрос об очистке лечебных сывороток от балластной массы и концентрации иммунологически активных фракций белка приобретает сейчас важное практическое значение, тем более, что противочумные сыворотки, несмотря на их малую эффективность, до сих пор продолжают применяться в нативном состоянии, в результате чего очень часто имеют место явления анафилаксии и сывороточной болезни у лиц, привитых сывороткой.

В 1954 году по предложению профессора Покровской сотрудниками Московского института вакцин и сывороток имени Мечникова под руководством Н. А. Пономаревой и М. Н. Дурасовой была разработана методика получения гамма- и бета-глобулинов из противочумной и противохолерной сывороток. Методика получения этих препаратов заключается в следующем:

Разделение сывороточных белков на отдельные фракции производится различной концентрацией этилового спирта. Во избежание денатурирования белков осаждение их проводится при низких температурах. Спирт легко удаляется при высушивании белков в замороженном состоянии под вакуумом или путем диализа.

Осаждающее действие спирта обусловлено, главным образом, низкой диэлектрической постоянной смеси спирт—вода по сравнению с диэлектрической постоянной воды. Растворимость белков сыворотки в воде или в водно-спиртовых смесях зависит от температуры, концентрации водородных ионов и ионной силы раствора.

Варьируя все эти факторы Н. А. Пономарева и ее сотрудники получили из сыворотки крови ряд биологически активных фракций белка: гамма- и бета-глобулины.

В августе 1954 г. сотрудниками вышеуказанного института под руководством Пономаревой с участием одного из нас (Хунданов) были получены впервые несколько серий гамма- и бета-глобулинов из противочумной сыворотки Иркутского и Саратовского институтов. Указанные препараты по содержанию белка и электрохимическим свойствам объяснить индивидуальными качествами сывороток, из которых изготовлялись указанные препараты.

Опыты по проверке эффективности препаратов за неимением морских свинок проводились на белых мышах, которые все же считаются чувствительными к чумной инфекции, что создает наименее благоприятные условия для действия препаратов и позволяет выявить лучшие из них. Суждение о качестве испытуемых препаратов мы проводили по количеству выживших животных в сравнении с контрольными.

Для испытания эффективности препаратов последние вводились животным одномоментно с заражением в количестве 0,5 и 0,25 мл; 0,3 и 0,1 мл; при этом следует заметить, что исходные серии сывороток вводились животным только в дозе 0,5 и 0,3 мл, и эти дозы мы считаем наиболее оптимальными для нативных сывороток.

Проверку действия испытуемых препаратов мы проводили сериями, причем на испытуемый препарат каждой серии бралась для сравнения исходная сыворотка этой же серии. Такой способ позволял нам дать сравнительную оценку препаратов, испытанных в равных условиях.

Для контрольного заражения выбирался вирулентный штамм *V. pestis* (143), минимальная смертельная доза которого равнялась 50 и 100 микробам. Летальная доза нашего штамма определялась путем титрования на белых мышах.

Эмульсия для заражения тщательно стандартизировалась по общепринятому бактериологическому стандарту, после чего из нее делались последовательные разведения в физиологическом растворе до получения необходимого стандарта. Заражающая доза содержалась обычно в 0,25 и 0,5 мл жидкости. Заражение животных производилось 10 и 20 Dlm подкожно у корня хвоста, а препараты вводились подкожно в области брюшной стенки.

Подопытные животные выдерживались в течение 15 суток, после чего они умерщвлялись и подвергались патологоанатомическому вскрытию с последующим бактериологическим исследованием.

Для изучения эффективности нативных противочумных сывороток и их белковых фракций нами было поставлено три опыта на белых мышах.

В каждом опыте была испытана эффективность двух-трех серий сывороток на зараженных белых мышах. В первом и втором

опытах животные заражались 20 Dlm вирулентной чумной культуры, а а в третьем — 10 Dlm (см. таблицу).

Как видно из таблицы, лучшие результаты дают гамма-глобулины сывороток серий 786, 797, 794, 801, 804, 830, которые по эффективности превосходят нативные серии сывороток в 1,5—5 раз в зависимости от их индивидуальных качеств и дозировок. Несколько худшие результаты дают гамма-глобулины серии 5, которые при применении дозы 0,25 мл дают немного лучшие результаты, чем нативная сыворотка.

Бета-глобулины в сравнении с гамма-глобулинами дают худшие результаты, причем более или менее эффективной оказалась только одна серия — 797, которая в 2 раза превосходит по эффективности исходную серию сыворотки.

Далее заслуживает внимания тот факт, что животные, получившие гамма- и бета-глобулины, наряду с большим процентом выживания дают значительное удлинение срока гибели (от 2 до 5 суток).

Следовательно, все эти данные с несомненностью указывают, что гамма-глобулины обладают безусловным преимуществом, чем бета-глобулины и нативные серии сывороток.

Наши опыты на сравнительно небольшом количестве животных позволяют нам сделать следующие предварительные выводы:

1. Гамма-глобулины, в зависимости от индивидуальных качеств самих исходных сывороток, дают больший эффект, чем бета-глобулины и нативные сыворотки.

2. Гамма-глобулины требуют дальнейшего изучения и усовершенствования с перспективой введения их в практику.

Т а б л и ц а

Превентивное действие бета-гамма-глобулинов и нативных сывороток

№ опыта	Название препарата	Доза вводимого препарата в мл	№ серии	Количество белых мышей			Срок продления жизни в днях
				всего	пало	выжило	
1	Гамма-глобулины . . .	0,5	5	10	6	4	5,2
	"    "    "    "    "	0,25		10	6	4	5,5
	Бета-глобулины . . .	0,5		10	6	4	6,1
	Нативная исходная сыворотка . . . . .	0,5		10	6	4	7,6
	Гамма-глобулины . . .	0,5	786	10	5	5	6,8
	"    "    "    "    "	0,25		10	8	2	6,2
	Бета-глобулины . . .	0,5		10	9	1	3,8
	Нативная исходная сыворотка . . . . .	0,5		10	9	1	4,1
2	Гамма-глобулины . . .	0,5	797	20	14	6	7,8
	"    "    "    "    "	0,3		20	13	7	8
	"    "    "    "    "	0,1		20	15	5	7,1
	Бета-глобулины . . .	0,3		20	16	4	6,9

№ опыта	Название препарата	Доза вводимого препарата в мл	№ серии	Количество белых мышей			Срок продолжения жизни в днях
				всего	пало	выжило	
3	Нативная исходная сыворотка . . . . .	0,5	794	20	18	2	8,1
	"	0,3		20	18	2	7
	Гамма-глобулины . . . . .	0,5		20	11	9	10
	"	0,3		20	12	8	8,5
	"	0,1		20	13	7	8,5
	Бета-глобулины . . . . .	0,3		20	14	6	6,2
	Нативная исходная сыворотка . . . . .	0,5	804	20	16	4	7,5
	"	0,3		20	13	7	7,6
	Гамма-глобулины . . . . .	0,5		20	7	13	9,1
	"	0,3	804	20	9	11	6,6
	"	0,1		20	15	5	8,8
	Нативная исходная сыворотка . . . . .	0,5		20	11	9	10,3
	"	0,3	801	20	15	5	9,2
	Гамма-глобулины . . . . .	0,5		20	13	7	6
	"	0,3		20	16	4	6,4
	"	0,1	804	20	20	0	6,5
	Нативная исходная сыворотка . . . . .	0,5		20	18	2	6,3
	"	0,3		20	18	2	6,2
	Гамма-глобулины . . . . .	0,5	830	20	17	3	3,9
	"	0,3		20	15	5	4,0
"	0,1	20		15	5	4,1	
Нативная исходная сыворотка . . . . .	0,5	830	20	18	2	5,5	
"	0,3		20	16	4	6,8	
	Контроль к 1 и 2-му опытам . . . . .			60	60	—	4,5
	Контроль к 3-му опыту . . . . .			60	58	2	4,8

Е. И. Лясковская

## СООТНОШЕНИЕ АГГЛЮТИНАЦИОННОГО ТИТРА И ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВОЧУМНЫХ СЫВОРОТОК

(Сообщение 4-е)

Несмотря на значительную давность применения серотерапии при чуме и неоднократные попытки найти метод определения качества противочумных сывороток, последние до настоящего времени относятся к нетитруемым. Так, Желтенков предложил два метода титрации противочумных сывороток: на белых мышах и пробирочный метод с помощью реакции флоруляции. Но ни один из предложенных им методов не получил широкого распространения. Жуков-Вережников считает одним из препятствий для титрования противочумных сывороток на белых мышах резкие колебания вирулентности культур *V. pestis*. Поэтому он предлагает строить схему оценки действия сывороток по сравнению отдельных серий друг с другом. Это относительный показатель, так как трудно заменить старый стандарт равноценным новым.

Кроме определения эффективности сывороток биологическим методом, как указывает Жуков-Вережников, необходимо испытывать ее рядом иммунологических реакций. На первое место среди них он выдвигает реакцию агглютинации, которая получила наибольшее распространение. Он говорит: «Агглютинации при оценке силы сыворотки мы придаем большое значение. Значительные титры агглютинации всегда бывают у сывороток, обладающих значительной эффективностью».

В то же время еще при первых наблюдениях над феноменом агглютинации было убедительно показано Георгиевским, что предохранительная способность сывороток иммунизированных животных часто не соответствует их агглютинирующим свойствам. Этот важный факт получил дальнейшее развитие во всестороннем обобщении в классическом труде И. И. Мечникова.

Последний на многочисленных примерах показал, что нельзя установить связь между агглютинацией и невосприимчивостью животного. Так же Коробкова с соавторами, изучая значение серологических реакций в диагностике противочумного иммунитета, отмечают, что даже при достаточной напряженности его в сыворотке иммунизированных животных агглютинины часто отсутствуют. Динамика появления и исчезновения антител не отражает специфической перестройки организма животных. Они говорят: «Выработка

антител (агглютининов) при чуме... не стоит в зависимости от развития иммунитета».

Аналогичное мнение высказывает Громов о соотношении между титром агглютинации и степенью защитного действия брюшно-тифозных сывороток. Он указывает, что можно получить сыворотки, совсем не имеющие антител, но обладающие очень высокими защитными свойствами.

Таким образом, в литературе отсутствует единое мнение о практической ценности реакции агглютинации для оценки силы сыворотки.

В связи с этим, целью настоящей работы явилось выяснение взаимосвязи между агглютинационным титром и превентивными свойствами противочумных сывороток.

Исследованию было подвергнуто 14 капсульных сывороток, полученных от продуцентов, иммунизированных подкожным способом авирулентной культурой *V. pestis* EB.

У иммунных сывороток изучались превентивные свойства и ставилась реакция агглютинации, причем проверка эффективности была произведена на белых мышах из расчета 10 мышей на каждую сыворотку. Сыворотки вводились под кожу за 1—2 часа до заражения, которое было произведено 50 Dlm вирулентной чумной культуры. Об эффективности исследуемых сывороток судили по проценту выживаемости подопытных мышей и сроку продления их жизни по сравнению с контрольными животными. Постановка реакции агглютинации проводилась по обычной методике.

Полученные результаты в опыте приводятся в нижеследующей таблице.

Агглютинационные титры противочумных сывороток и их превентивные свойства

Сыворотка про- дуче- нта	Цикл экс- плуатации	Агглюти- национный титр	Превентивные свойства сывороток	
			выживае- мость в %	срок продления жизни по сравне- нию с контролем
Реклама . . . . .	XXI	1:160	0	0,4
Реклама . . . . .	XIX	1:160	10	0,5
Дерзкий . . . . .	XII	1:160	10	4,4
Выстрел . . . . .	XII	1:160	20	1,2
Ветер . . . . .	X	1:160	20	2,4
Реклама . . . . .	XX	1:320	10	4,7
Дерзкий . . . . .	X	1:320	10	0,5
Донец . . . . .	X	1:320	0	0,4
Салют . . . . .	XIX	1:640	30	1,3
Красик . . . . .	VII	1:640	30	6,7
Байкал . . . . .	VII	1:640	60	4,8
Салют . . . . .	XX	1:1280	20	0,4
Вымпел . . . . .	VII	1:1280	20	1,9
Ветер . . . . .	XII	1:1280	30	3,4

Из полученных данных следует, что при титре 1 : 160 мы имели две сыворотки, резко отличающиеся по своему качеству. Одна сыворотка (Ветер, X цикл) обеспечивала 20% выживаемости подопытных животных и продление их жизни на 2,4 суток по сравнению с контрольными, тогда, как другая (Реклама, XXI цикл) не обладала превентивными свойствами. Также при титре 1 : 320 мы имели одну сыворотку, дающую 10% выживаемости и продление жизни на 4,7 суток, в то время как другая (Донец) совершенно не обладала превентивными свойствами. Кроме того, и при титре 1 : 640 были две сыворотки, опять же резко отличающиеся по качеству: одна из них (Байкал) имела показатели эффективности в 2 раза выше, чем другая (Салют, XIX цикл).

Итак, при одном и том же титре агглютинации сыворотки могут быть довольно различного качества. Одновременно при резко различных титрах агглютинации эффективность противочумных сывороток может быть одной и той же. Так, одна сыворотка имела агглютинационный титр 1 : 160 (Выстрел), а давала 20% выживаемости и продление жизни на 1, 2 суток, тогда как другая (Салют, XX цикл) имела высокий титр агглютинации — 1 : 1280, но обладала таким же качеством. Другой пример: сыворотка производителя Ветра X цикла, имеющая агглютинационный титр 1 : 160, обеспечивала 20% выживаемости и продление жизни на 2,4 суток, в то время как сыворотка производителя Вымпела с более высоким агглютинационным титром — 1 : 1280 — имела тождественные показатели эффективности.

В то же время при более высоких титрах агглютинации показатели превентивных свойств были ниже, чем при более низких титрах. Например, сыворотка Вымпела имела агглютинационный титр выше (1 : 1280), чем у сыворотки Байкала (1 : 640), а эффективность последней была в 3 раза выше; или сыворотка Ветра X цикла имела агглютинационный титр ниже (1 : 160), чем сыворотка Донца (1 : 320), тогда как первая сыворотка обеспечивала 20% выживаемости и продление жизни на 2,4 суток, а вторая не обладала превентивными свойствами. Следующий пример на сыворотке одного и того же производителя — Салюта. Так, в одном из циклов была получена сыворотка с агглютинационным титром 1 : 1280; она обеспечила 20% выживаемости подопытных мышей и давала продление жизни всего на 0,4 суток по сравнению с контрольными. Сыворотка, полученная в следующем цикле, имела более низкий агглютинационный титр (1 : 640), но по качеству оказалась лучшей: она обеспечивала 30% выживаемости животных и давала продление их жизни на 1,3 суток.

### ВЫВОДЫ

1. Между агглютинационным титром противочумной сыворотки и ее эффективностью нельзя установить прямой зависимости. При одном и том же титре агглютинации сыворотка может быть высокоэффективной и не обладающей совершенно превентивными свойствами. В то же время при резко различных титрах, как 1 : 160 и 1 : 1280, сыворотки могут быть одного и того же качества.

2. Неприемлемо с целью оценки качества противочумных сывороток использовать реакцию агглютинации.



## ЛИТЕРАТУРА

1. Громов А. С. Соотношение между титром агглютинации и защитными силами сывороток. ЖМЭИ, 1951, № 9.
2. Желтенков А. И. О подкожном методе титрации противочумных антитоксических сывороток на белых мышах. Вестн. микроб., эпид. и паразит., посвященный 25-летию Саратовского института «Микроб», 1944.
3. Желтенков А. И. О токсине чумного микроба и антитоксических противочумных сыворотках. ЖМЭИ, 1946, № 3.
4. Желтенков А. И. О чумном токсине, анатоксине, противочумных антитоксических сыворотках и методах стандартизации их на белых мышах. Вестн. микроб., эпид. и паразит., т. XVII, вып. 3—4, 1938.
5. Желтенков А. И. О флокулирующей способности противочумных сывороток, а также токсической, оболочечной и соматической фракции *V. pestis* и о значении реакции флокуляции для стандартизации их. Вестн. микроб., эпид. и паразит., т. XIX, вып. I, 1940.
6. Желтенков А. И. Пятидесятилетние итоги изучения и изготовления противочумных сывороток. (Доклад). Рукопись.
7. Жуков-Вережников Н. Н. Иммунология чумы. Москва—Ленинград, 1940.
8. Руководство по сывороточному и вакцинному делу. Москва, 1943, стр. 430.
9. Коробкова Е. И., Фаворисова Б., Крайнова А. Значение серологических реакций в диагностике противочумного иммунитета. Вестн. микроб., эпид. и паразит., т. XVIII, вып. 1—2, 1938, стр. 72.
10. Мечников И. И. Невосприимчивость в инфекционных болезнях. Москва, 1947.
11. Георгиевский А. Anna es l'Ins itut Pasteur т. XIII, 1899, стр. 406—425.

П. А. Шершневу, Е. Д. Шкурко,  
Е. И. Лясковская, Л. Е. Хунданов

### ОЧИСТКА И КОНЦЕНТРАЦИЯ ПРОТИВОЧУМНЫХ СЫВОРОТОК НЕЙТРАЛЬНЫМИ СОЛЯМИ

В настоящей работе мы поставили целью определить влияние различных нейтральных солей на эффективность противочумных сывороток при их очистке и концентрации. В качестве осадителей сывороточных белков нами были взяты сернокислый аммоний, сернокислый натрий и сернокислый магний. Методика, примененная в нашей работе, заключалась в удалении альбуминов сыворотки при помощи осаждения общих глобулинов указанными выше нейтральными солями с последующим водным диализом их (метод Дзергзовского и Предтеченского).

Сыворотка разбавлялась вдвое стерильной дистиллированной водой, добавлялось необходимое количество кристаллической соли для полного осаждения глобулинов. Сыворотка, обработанная таким образом, оставлялась при температуре 27—30° на 16—18 часов. Осадок общих глобулинов отфильтровывался через техническое фильтровальное полотно; фильтрат, содержащий альбумины, отбрасывался. Осадок глобулинов после подсушки и перессовки размельчался и помещался в вязкие мешочки. Эти мешочки с осадком подвешивались в ванну с проточной водой (в условиях опыта температура воды была 16—20°) на 3—5 суток. В процессе диализа в мешочки добавлялся в небольшом количестве хлороформ. Диализ заканчивался, когда проба на сернокислые соли показывала процент, установленный для очищенных и концентрированных сывороток. Затем сыворотка из вязких мешочков профильтровывалась через стерильный двухслойный марлевый фильтр; добавлялся кристаллический хлористый натрий до содержания 0,85%, и сыворотки разбавлялись стерильным физиологическим раствором до содержания 11—13% белка; рН сыворотки доводился до 7,2—7,5 путем прибавления 3% NaOH и 0,4 н HCl. В качестве консерванта применялся хлороформ в количестве 0,5%. В дальнейшем производилась фильтрация сыворотки через фильтр Зейтца с последующей добавкой хлороформа (0,5%).

Определение процентного содержания белка производилось весовым способом. Вязкость определялась при температуре 20° вискозиметром Детермана. Сернокислые соли для осаждения общих глобулинов брались в следующих количествах: сухой сернокислый аммоний — 40%, сернокислый натрий кристаллический — 58% и

серноокислый магний кристаллический — 70% (проценты указаны к объему разбавленной сыворотки).

Вышеописанным методом нами были подвергнуты очистке и концентрации три серии противочумных сывороток (766, 767 и 768), изготовленных Иркутским противочумным институтом и хранившихся с момента кровопускания в течение трех месяцев.

Результаты химических анализов исходных, очищенных и концентрированных сывороток представлены в табл. 1.

Из этих данных видно, что в процессе очистки количество общего белка в пробах сывороток уменьшалось:

при применении серноокислого аммония	на 21—34%
» » серноокислого натрия	на 50—57%
» » серноокислого магния	на 32—39%

При концентрации сывороток процентное содержание белка в них повышалось до 11,4—13,3%, вязкость увеличивалась по сравнению с исходной в 1,5—2,2 раза. Наибольший процент выхода концентрированной сыворотки оказался при обработке серноокислым аммонием (48,1%) и наименьший — при применении серноокислого натрия (30,5%).

Все серии очищенных и концентрированных сывороток были проверены на стерильность путем высева на жидкие и твердые питательные среды и на безвредность — на лабораторных животных (белых мышах).

После получения положительных результатов при проверке на стерильность и безвредность указанные сыворотки испытывались на эффективность на лабораторных животных в сравнении с неочищенными сыворотками этих же серий. Для опыта было взято 450 белых мышей весом в 18—20 граммов. Эти мыши перед опытом были разбиты на 4 группы: первой группе мышей (135 шт.) было введено под кожу по 0,6 мл очищенной и концентрированной противочумной сыворотки серий 766, 767 и 768; второй группе мышей (135 шт.) — по 0,6 мл очищенной и концентрированной сыворотки тех же серий, но разбавленных вдвое физиологическим раствором; третьей группе мышей (135 шт.) — по 0,6 мл неочищенной противочумной сыворотки тех же серий; четвертая группа мышей (45 шт.) служила контролем в опыте.

На каждую серию сыворотки бралось в опыт по 15 мышей.

Через 1—2 часа после введения сыворотки все подопытные и контрольные мыши подвергались заражению вирулентной культурой *V. pestis* (штамм № 143). Минимальная смертельная доза указанного штамма равнялась 100 микробам, а заражение производилось 20 Dlm.

Результаты биологической проверки эффективности сывороток представлены в табл. 2.

Все павшие подопытные мыши вскрывались. При вскрытии их отмечалась типичная патологоанатомическая картина чумы. Из органов павших животных проводились высевы на чашки с агаром, где наблюдали типичный рост *V. pestis*. Одновременно из органов животных делались мазки-отпечатки, причем, особенно в первые дни опыта, биполяры обнаруживались в массовом количестве, в то время как в последующие дни количество их постепенно уменьшалось. Все выжившие мыши через 14 суток были захлороформированы и вскрыты, при этом специфической культуры в большин-

стве случаев не выделялось, а также в мазках-отпечатках биполяры не обнаруживались.

При рассмотрении табл. 2 оказывается, что при использовании в качестве осадителей общих глобулинов сыворотки как сернокислого аммония, так и сернокислого натрия не все очищенные и концентрированные сыворотки дали повышение эффективности. Так, при проверке эффективности на лабораторных животных оказалось, что из трех взятых серий две дали увеличение выживаемости мышей по сравнению с нативной сывороткой (серия 766 — выживаемость мышей возросла в 2—2,2 раза, серия — 768 — в 1,4—1,5 раза, третья же серия — 767 снизила выживаемость мышей в 1,2—2,5 раза).

При применении для очистки и концентрации сывороток сернокислого магния оказалось, что все три взятые серии сывороток при введении их лабораторным животным дали, во всех случаях, увеличение процента выживаемости мышей (серия 766 — в 2,2 раза, 767 — в 1,5 раза и 768 — в 1,6 раза).

Лучшие результаты при очистке и концентрации противочумных сывороток получились с применением в качестве осадителя сернокислого магния (табл. 3). При указанном методе выживаемость подопытных животных после введения очищенных сывороток достигает 66,6%, в то время как выживаемость мышей при применении неочищенной противочумной сыворотки была всего лишь 38,5%. Продолжительность жизни подопытных животных увеличилась на 5,1 суток против контроля. Эти данные указывают, что очищенная и концентрированная сыворотка с применением сернокислого магния превосходит по своим превентивным свойствам в 1,7 раза нативную противочумную сыворотку. Эффективность концентрированных сывороток, разбавленных вдвое физиологическим раствором, испытывалась для дополнительной проверки влияния уменьшенного количества белков. По нашим предположениям эти разбавленные сыворотки должны были быть по эффективности примерно равноценными исходным.

В результате этого опыта оказалось, что очищенные разбавленные сыворотки в большинстве серий показали почти одинаковую эффективность по сравнению с исходными. Исключением явилась большая эффективность серии 766 при применении в качестве осадителя сернокислого натрия. Также несколько неожиданным явилось повышение эффективности серии 767, которая при применении сернокислого аммония и сернокислого натрия давала меньшую эффективность по сравнению с нативной сывороткой. Продолжительность жизни подопытных мышей увеличилась при применении сернокислого аммония и сернокислого натрия на 5,4—5,9 дня против контроля.

На основании наших экспериментальных данных мы полагаем, что при очистке и концентрации сывороток большое значение имеет выбор осадителей. Из взятых нами трех нейтральных солей наиболее подходящим для противочумных сывороток является сернокислый магний, который дал повышение эффективности всех взятых для очистки сывороток в среднем в 1,7 раза. Что касается сернокислого аммония и сернокислого натрия, то применение этих солей в наших работах при очистке и концентрации противочумных сывороток не дало постоянных положительных результатов.

Физико-химические свойства нативных и концентрированных сыворогов

№ серии сыво- ротки	До очистки и концентрации					После очистки и концентрации									
	объем сыворопки (в литрах)	вязкость при 20°	pH	% белка	количество белка во взятом объеме сыворопки (в граммах)	применен- ный осадит- ель глобу- линов	объем сыворопки (в литрах)	вязкость при 20°	pH	% белка	% содержащая сернистых солей	количество белка в полученном объеме сывороп- ки (в граммах)	количество уда- ленного белка (в граммах)	% уменьшения количества белка	% выхода очищен- ной и концент- рированной сыворопки
766	0,7	2,2	7,9	8,11	56,77	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,30	3,9	7,3	12,36	0,025	37,08	19,69	34,69	42,9
767	0,7	2,2	7,9	8,71	60,97	"	0,36	3,9	7,2	13,31	0,025	47,91	13,06	21,42	51,4
768	0,7	2,2	8,1	8,68	60,76	"	0,35	3,8	7,4	13,30	0,025	46,55	14,21	23,38	50,
766	0,7	2,2	7,9	8,11	56,77	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,19	4,6	7,3	12,85	0,1	24,42	32,35	56,98	27,1
767	0,7	2,2	7,9	8,71	60,97	"	0,25	3,9	7,5	12,13	0,1	30,33	30,64	50,25	35,7
768	0,7	2,2	8,1	8,68	60,76	"	0,20	4,8	7,4	13,01	0,1	26,02	34,74	57,18	28,6
766	0,7	2,2	7,9	8,11	56,77	Mg SO <sub>4</sub>	0,30	3,3	7,4	12,70	2	38,10	18,67	32,89	42,9
767	0,7	2,2	7,9	8,71	60,97	"	0,35	3,3	7,4	11,40	2	39,90	21,07	34,56	50,
768	0,7	2,2	8,1	8,68	60,76	"	0,30	4,2	7,4	12,25	2	36,75	24,01	39,51	42,9

Эффективность сывороток, очищенных и концентрированных методом осаждения общих глобулинов нейтральными солями

№ группы	Испытуемые противочумные сыворотки	№ серии сывороток	Количество мышей в каждом опыте	Осадитель $(NH_4)_2SO_4$				Осадитель $Na_2SO_4$				Осадитель $MgSO_4$				Неконцентрированная сыворотка			
				пало	выжило	% выживаемости мышей	средний срок продолжительности жизни мышей (в днях)	пало	выжило	% выживаемости мышей	средний срок продолжительности жизни мышей (в днях)	пало	выжило	% выживаемости мышей	средний срок продолжительности жизни мышей (в днях)	пало	выжило	% выживаемости мышей	средний срок продолжительности жизни мышей (в днях)
I	Очищенная и концентрированная . . . . .	766	15	4	11	73,3	9,2	5	10	66,6	8,8	4	11	73,3	9,8	—	—	—	—
II	Очищенная и концентрированная разбавленная в 2 раза физиологическим раствором	766	15	9	6	40	9	3	12	80	10,3	9	6	40	7,3	—	—	—	—
III	Исходная . . . . .	766	45	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	30	15	33,3	7,9
I	Очищенная и концентрированная . . . . .	767	15	11	4	26,6	9,3	13	2	13,3	8,2	7	8	53,3	8,7	—	—	—	—
II	Очищенная и концентрированная разбавленная в 2 раза физиологическим раствором	767	15	10	5	33,3	10	10	5	33,3	10,3	8	7	46,6	8,8	—	—	—	—
III	Исходная . . . . .	767	45	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	29	16	35,5	8,8
I	Очищенная и концентрированная . . . . .	768	15	6	9	60	10,2	5	10	66,6	10,6	4	11	73,3	9,5	—	—	—	—
II	Очищенная и концентрированная разбавленная в 2 раза физиологическим раствором	768	15	11	4	26,6	10,2	9	6	40	10	9	6	40	10,1	—	—	—	—
III	Исходная . . . . .	768	45	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	24	21	46,6	9,3
IV	Контроль . . . . .	—	15	15	0	0	4,4	15	0	0	4,2	15	0	0	4,4	—	—	—	—

## Средние данные эффективности сывороток, очищенных и концентрированных методом осаждения общих глобулинов нейтральными солями

№ групп	Вид испытуемых сывороток	Примененный осадитель глобулинов	Количество белых мышей			Средний срок продолжительности жизни мышей (в днях)	% выживаемости мышей
			взято в опыт	пало	выжило		
I	Очищенная и концентрированная противочумная сыворотка	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	45	21	24	9,6	53,3
I	"	$\text{Na}_2\text{SO}_4$	45	23	22	9,2	48,8
I	"	$\text{MgSO}_4$	45	15	30	9,4	66,6
III	Неконцентрированная исходная сыворотка	—	135	83	52	8,7	38,5
IV	Контроль	—	45	45	0	4,3	0

## ВЫВОДЫ

1. Применение сернокислого аммония и сернокислого натрия при очистке и концентрации противочумных сывороток привело к повышению их эффективности в 1,5—2 раза. Однако увеличение эффективности наблюдалось не у всех серий очищенных сывороток.

2. Наиболее подходящим из взятых нами солей при очистке и концентрации противочумных сывороток оказался сернокислый магний. При данном методе все взятые сыворотки дали повышение эффективности в 1,5—2,2 раза (в среднем в 1,7 раза).

3. Концентрированные сыворотки, разбавленные вдвое физиологическим раствором, в большинстве серий показали почти одинаковую эффективность с исходными сериями этих же сывороток. Отсюда можно заключить, что при концентрации противочумных сывороток их эффективность возрастает примерно вдвое по сравнению с исходными сыворотками.

П. А. Шершнев, Е. И. Лясковская,  
Е. Д. Шкурко, Л. Е. Хунданов

### ОЧИСТКА И КОНЦЕНТРАЦИЯ ПРОТИВОЧУМНЫХ СЫВОРОТОК С ПРИМЕНЕНИЕМ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ПЕРЕВАРИВАНИЯ

Одним из методов комбинированной очистки и концентрации лечебно-профилактических сывороток является их предварительная обработка протеолитическими ферментами. Нашей задачей являлось выяснение влияния различных ферментов на эффективность очистки и концентрации противочумных сывороток. Для работы нами были взяты ферменты: пепсин, трипсин и катепсин.

Методика очистки и концентрации заключалась в ферментативном переваривании сыворотки при температуре 28—30° в течение 1½—2 часов, при рН для пепсина — 3,8; трипсина — 8,0 и катепсина — 6,4. Затем сыворотка нейтрализовалась 3% щелочью, после чего проводилось осаждение общих глобулинов просушенным в термостате сернокислым аммонием (из расчета 40% от общего объема жидкости). Диализ проводился проточной водой при температуре 16—20° в течение 6—8 дней до содержания сернокислой соли в 0,025—0,030%. В процессе диализа в вязкозные мешочки добавлялся в небольшом количестве хлороформ. Концентрированные сыворотки разбавлялись стерильным физиологическим раствором до содержания в них белка от 11,8 до 13,8%; рН доводился до 7,1—7,2. В качестве консерванта применялся хлороформ в количестве 0,5%. В дальнейшем производилась фильтрация сыворотки через фильтр Зейтца.

Определение процентного содержания белка проводилось рефрактометрически. Вязкость определялась при температуре 20° вискозиметром Детермана. Пепсин применялся медицинский, трипсин и катепсин нами получались в виде глицериновых вытяжек соответственно из поджелудочной железы и печени. Ферменты для переваривания белков сыворотки брались в следующих количествах: пепсин — 0,35% от содержания общего белка сыворотки, трипсин и катепсин — из расчета 1 мл вытяжки на 1 г сывороточного белка. Определение переваривающей силы ферментов производилось по методу Михаэлиса (пепсин и катепсин) и по способу Фульд-Гросса (трипсин).

Вышеописанным способом нами были очищены и сконцентрированы три серии противочумных сывороток, взятых через 2—3 дня после кровопускания (883, 885 и 887).

Как видно из табл. 1, в результате очистки количество общего белка в пробах сывороток уменьшалось, при применении пепсина



Физико-химические свойства нативных и концентрированных сыворонок

№ серии сыворонок	До очистки и концентрации						После очистки и концентрации									
	объем сыворонок (в литрах)	вязкость при 20°	pH	% белка	количество белка во взятом объеме сыворонок (в грам- мах)	примененный фермент	объем сыворонок (в литрах)	вязкость при 20°	pH	% белка	% содержания сер- ноокислых солей	количество белка во взятом объеме сыворонок (в грам- мах)	количество удален- ного белка (в грам- мах)	% уменьшения белка	% выхода очищен- ной и концентриро- ванной сыворонок	средний % выхода концентрированной сыворонок
883	0,7	2,1	7,6	9	63	Пепсин	0,29	3	7,2	13,2	0,03	38,28	24,72	39,28	41,4	40
885	0,7	2,2	7,6	9,3	65,1	"	0,29	2,4	7,1	11,8	0,03	34,22	30,88	47,43	41,4	40
887	0,7	1,8	7,6	8,8	61,6	"	0,26	3,5	7,2	12,6	0,03	32,76	28,84	46,82	37,1	40
883	0,7	2,1	7,6	9	63	Трипсин	0,31	3,2	7,1	12,8	0,025	39,68	23,32	37,02	44,3	44,3
885	0,7	2,2	7,6	9,3	65,1	"	0,34	2,8	7,2	12,6	0,025	42,84	22,26	34,19	48,6	44,3
887	0,7	1,8	7,6	8,8	61,6	"	0,28	3,1	7,2	12,6	0,03	35,28	26,32	42,73	40	44,3
883	0,7	2,1	7,6	9	63	Катепсин	0,36	3,2	7,1	13,8	0,03	49,68	13,32	21,14	51,4	44,8
885	0,7	2,2	7,6	9,3	65,1	"	0,30	3,1	7,1	12,7	0,03	38,1	27	40,86	42,9	44,8
887	0,7	1,8	7,6	8,8	61,6	"	0,28	3,1	7,2	12,3	0,03	34,44	27,16	44,09	40	44,8

на 39—47%, при применении трипсина на 34—42%, катепсина — на 21—44%.

При концентрации сывороток процентное содержание белка в них повышалось от 11,8 до 13,8%, вязкость увеличивалась по сравнению с исходной в 1,1—1,9 раза. Наибольший процент выхода концентрированной сыворотки оказался при применении катепсина (44,8%) и наименьший — при применении пепсина (40,0%).

Все серии очищенных и концентрированных сывороток были проверены на стерильность путем посева на жидкие и твердые питательные среды и на безвредность — на лабораторных животных (белых мышах).

После получения положительных результатов проверки на стерильность и безвредность сыворотки подвергались испытанию эффективности на лабораторных животных в сравнении с нативными сыворотками этих же серий. Для опыта было взято 300 белых мышей весом в 18—20 граммов. Мыши перед опытом были разбиты на 4 группы:

Первой группе мышей (135 шт.) было введено подкожно по 0,6 мл очищенной и концентрированной противочумной сыворотки серии 883, 885 и 887. Второй группе мышей (90 шт.) — по 0,3 мл той же сыворотки указанных серий; третьей группе мышей (45 шт.) — по 0,6 мл нативной противочумной сыворотки тех же серий. Четвертая группа мышей (30 шт.) служила контролем.

Через 1—2 часа после введения сыворотки все подопытные и контрольные мыши заражались вирулентной культурой *V. pestis* (штамм № 143). Минимальная смертельная доза штамма равнялась 100 микробам, а заражение производилось 20 D<sub>50</sub>.

При вскрытии павших животных у большинства из них наблюдалась гиперемия подкожной клетчатки, кровонаполнение внутренних органов, увеличение селезенки и печени. В последних часто встречались некротические очаги в период острого течения инфекции.

По истечении 14 суток выжившие животные были захлороформированы, и у большинства из них патологоанатомические изменения были незначительны.

Из органов вскрытых животных делались мазки-отпечатки и посева на чашки с агаром. В течение первых 9—10 дней во всех случаях наблюдался типичный рост *V. pestis*. В последующие дни специфическую культуру выделить не всегда удавалось. В первые 5—6 дней в мазках-отпечатках биполяры были в массовом количестве, в последующие дни число их постепенно снижалось. На 12—14-е сутки биполяры обнаружить не удалось, так же как и у хлороформированных подопытных животных. В посевах из внутренних органов хлороформированных мышей специфической культуры найдено не было.

При рассмотрении табл. 2. оказывается, что не все концентрированные сыворотки дали повышение эффективности. Так, применение двух серий сывороток увеличило выживаемость мышей (серии 883 в 1,5—2,5 раза и серии 887 в 1,2—1,6 раза) и одной серии (885) — уменьшило. Лучшие результаты оказались при применении пепсина. Выживаемость подопытных животных в этом случае достигала 33% и 66%, в то время как выживаемость при применении нативных сывороток была равна 13% и 40%. Продолжитель-



ность жизни мышей повышалась на 5,2 и 7,7 суток против контроля.

Концентрированные сыворотки, взятые в половинной дозировке (0,3 мл), испытывались на эффективность для дополнительной проверки влияния уменьшенного количества белков.

Оказалось, что концентрированные сыворотки в двух сериях (883 и 887) показали почти одинаковую эффективность по сравнению с нативными сыворотками, взятыми в дозировке 0,6 мл. Исключением явилась большая эффективность серии 883 при очистке с пепсином и отсутствовала выживаемость мышей при испытании серии 883 с применением катепсина.

На основании проведенных опытов с применением различных ферментов при комбинированном методе очистки и концентрации оказалось, что из взятых нами трех ферментов лучшие результаты были получены при применении пепсина. Из трех серий сывороток две серии обнаружили повышение эффективности в среднем в 2 раза против неконцентрированных.

### ВЫВОДЫ

1. Применение ферментов: пепсина, трипсина и катепсина при комбинированном методе очистки и концентрации сывороток дало повышение превентивных свойств в 1,5—2,5 раза. Однако наряду с увеличением эффективности в двух сериях одна концентрированная сыворотка показала резкое снижение эффективности против исходной.

2. Лучшие результаты очистки и концентрации сывороток обнаружены при применении пепсина. Две серии из трех при этом способе дали повышение эффективности в 1,6 и 2,5 раза по сравнению с нативными сыворотками. Средний срок продолжительности жизни подопытных белых мышей увеличился на 5 и 7,5 суток по сравнению с контрольными животными.

П. А. Шершнев

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ОЧИСТКИ И КОНЦЕНТРАЦИИ ПРОТИВОЧУМНЫХ СЫВОРОТОК

С конца прошлого века в качестве лечебно-профилактических препаратов имеют широкое применение иммунные сыворотки животных.

Повышение эффективности большинства лечебных сывороток было достигнуто благодаря их очистке и концентрации. Эти методы заключались в выделении антител и удалении иммунопассивных (балластных) белков.

Первой работой по очистке и концентрации сывороток в нашей стране и первой в мировой литературе с подробным описанием технологического процесса явилась работа Держговского и Предтеченского (1908). Методика этой работы заключалась в фракционном высаливании антитоксического глобулина сернокислым аммонием с последующим водным диализом.

Способ Гибсона (США, 1905) очистки и концентрации сыворотки основывался на высаливании всех глобулинов при полунасыщении сернокислым аммонием, экстракции осадка глобулинов полунасыщенным раствором хлористого натрия и повторном осаждении антитоксического псевдоглобулина. Этот метод был усовершенствован Банцгофом (1908), который предложил предварительный прогрев сыворотки, чем повысилась степень очистки сыворотки за счет увеличения количества эйглобулиновой фракции осажденного белка.

Метод Держговского и Предтеченского с дополнением прогрева сывороток по Банцгофу в течение многих лет был единственным способом очистки и концентрации антитоксических сывороток, как в нашей стране, так и за рубежом, и сохранился до настоящего времени.

Первое клиническое изучение эффективности очищенных сывороток в нашей стране было произведено Эгизом и Колли (1913). При применении в качестве лечебно-профилактического препарата очищенной противодифтерийной сыворотки оказалось, что при хорошем терапевтическом эффекте эта сыворотка дает меньшее количество случаев сывороточной болезни, или же последняя протекает в более слабой форме, чем при применении неочищенных сывороток.

Кроме фракционного высаливания антитоксического глобулина, при очистке и концентрации стал внедряться метод электродиализа, который разрабатывался Левиным (1929) и Эттиш с сотру-

никами (1926—1933). Марковичем и Хаустовой (1939) был предложен способ проведения электродиализа в электродных камерах при любых рН.

Парфентьев (1936) рекомендовал для очистки сывороток метод пептического переваривания при рН около 4,0. Процесс очистки заключался в переваривании белков сыворотки пепсином, удалении переваренных балластных белков путем селективной коагуляции и в дальнейшем выделении антитоксина путем высаливания сернокислым аммонием. В производственных масштабах протеолитический метод в Советском Союзе был осуществлен Бейлинсон с сотрудниками (1945).

Овсеевич (1950) указывает, что применение при лечении дифтерии сывороток, очищенных и концентрированных методом «Диатерм», обеспечивает уменьшение анафилактических свойств и смягчает тяжесть сывороточной болезни по сравнению с нативной сывороткой.

Марковичем (1943) разработаны технологические условия очищения антибактериальных сывороток. Холчевым и Колесниковой (1947) рекомендован способ получения противокоревых гамма-глобулинов.

Пири и Грассе (1935) проводили опытное изготовление концентрированной противочумной сыворотки и испытание ее. Примененная ими методика в основном совпадала с ранее предложенным способом Держговского и Предтеченского. Концентрированные сыворотки были испытаны на диких крысах, зараженных вирулентной культурой *V. pestis*. Сыворотка животным вводилась за 24 часа до заражения. В результате этих опытов оказалось, что половинные дозы концентрированной сыворотки имели предохранительные свойства, одинаковые с неконцентрированной сывороткой. На основании этого авторы считали, что концентрированные сыворотки эффективнее нативных в два раза. Однако по данным Бакало и Завариной (1939), при сравнительной проверке образцов сывороток, изготовленных в СССР и Листеровском институте, оказалось, что концентрированные сыворотки Листеровского института (способ Пири и Грассе) были менее эффективны, чем нативные сыворотки, изготовленные в СССР.

Известно, что противочумные сыворотки не являются чисто антитоксическими или антибактериальными, а должны обладать по крайней мере тремя способностями: антибактериальной, антитоксической и способностью нейтрализовать патогенетические факторы *V. pestis*.

Методы очистки и концентрации этих сывороток требуют некоторых видоизменений для достижения достаточного повышения их эффективности.

В доступной нам литературе, кроме метода Пири и Грассе, мы не нашли работ по очистке и концентрации противочумных сывороток, поэтому мы поставили задачей настоящей работы провести оценку различных методов очистки и концентрации сывороток, видоизменить их и изыскать рациональный способ, пригодный для практического применения к противочумным сывороткам.

С этой целью нами были испытаны следующие методы очистки и концентрации:

1) осаждение общих глобулинов нейтральными солями (сернокислым аммонием, сернокислым натрием и сернокислым магнием);

2) протеолитическое переваривание (пепсином, трипсином и катепсином) с последующим осаждением общих глобулинов сернокислым аммонием;

3) изоэлектрическое осаждение изолабильного глобулина сыворотки.

Кроме указанных способов очистки и концентрации сывороток нами были дополнительно опробованы в ИЭМ им. Гамалея АМН СССР еще 2 метода:

1) «КД»,

2) «Диаферм-3».

Метод осаждения общих глобулинов нейтральными солями в основном исходит из способа Держжговского и Предтеченского. Сыворотка разбавляется вдвое стерильной дистиллированной водой, добавляется необходимое количество нейтральной соли (сернокислый аммоний, сернокислый натрий, сернокислый магний) до полного осаждения глобулинов. Осадок общих глобулинов отфильтровывается, и фильтрат, содержащий альбумины, отбрасывается. В последующем осадок глобулинов диализуется в проточной воде. Полученная очищенная и концентрированная сыворотка стерилизуется. Выход в среднем 30—48%.

Метод протеолитического переваривания с последующим осаждением общих глобулинов сернокислым аммонием мы использовали, ориентируясь на работу Адо по пепсинному перевариванию, с некоторыми изменениями. Сыворотка разбавлялась вдвое стерильной дистиллированной водой. Ферментативное переваривание сыворотки проводилось при температуре 28—30° в течение 1½—2 часов при рН для пепсина 3,8, трипсина — 8 и катепсина — 6,4. Затем сыворотка нейтрализовалась, после чего производилось осаждение общих глобулинов сернокислым аммонием. Диализ проводился проточной водой. Выход в среднем 40—44%.

Метод изоэлектрического осаждения изолабильного глобулина мы использовали, руководствуясь методикой, разработанной по отношению к противоменингококковым сывороткам, без изменений. Выход в среднем достигал 10%.

Метод «КД», разработанный в институте эпидемиологии и микробиологии им. Гамалея АМН СССР Бейлинсон, Бобковой и Курочкиной, заключался в полном удалении термолабильных балластных белков из сыворотки. Выход концентрированной сыворотки в среднем достигал 15—20% от нативной сыворотки.

Метод «Диаферм-3» был разработан также Бейлинсон с сотрудниками. В основном он заключался в ферментативном переваривании белков пепсином, осаждении псевдоглобулинов сернокислым аммонием, проведении водного диализа и обработке хлопчатобумажным термостабильным сорбентом.

Выход концентрированной сыворотки в среднем достигал 10% от взятой исходной сыворотки. Методы «КД» и «Диаферм-3» применялись нами без изменений.

Вышеуказанными методами было очищено и сконцентрировано 25 противочумных сывороток, полученных подкожной иммуни-

защитой лошадей. Все концентрированные сыворотки были проверены на стерильность путем высева на жидкие и твердые питательные среды и на безвредность — на лабораторных животных (белых мышях). Затем концентрированные и нативные сыворотки подвергались испытанию эффективности на лабораторных животных. Для этих опытов было взято 680 белых мышей, весом в 18—20 граммов. В среднем на каждую серию сыворотки бралось в опыт по 15 мышей.

Сыворотка вводилась мышам подкожно по 0,6 мл. Через 1—2 часа после введения сыворотки все подопытные и контрольные животные заражались вирулентной культурой *V. pestis* (штамм 143). Минимальная смертельная доза штамма равнялась 100 микробам, а заражение производилось 20 Dlm.

При вскрытии всех павших животных отмечалась типичная патологоанатомическая картина чумы. Из органов павших мышей делались посевы на чашки с агаром и мазки-отпечатки. В течение первых 9—10 дней во всех случаях наблюдался типичный рост *V. pestis*. В дальнейшие дни культуру не всегда удавалось выделить. Если в первые дни биполяры были видны в массовом количестве, то в последующие сроки их количество постепенно снижалось. На 12—14-е сутки биполяры уже не удавалось обнаружить. Все выжившие мыши через 14 суток хлороформировались и вскрывались. В посевах из внутренних органов хлороформированных белых мышей специфической культуры в большинстве случаев не выделялось. В мазках-отпечатках биполяры не обнаруживались.

Все работы с лабораторными животными по проверке эффективности сывороток, а также патологоанатомические исследования проводились врачами сывороточного отдела института Е. Д. Шкурко и Е. И. Лясковской.

В результате биологической проверки эффективности концентрированных сывороток получены следующие данные.<sup>1</sup>

По методу осаждения общих глобулинов нейтральными солями:

а) сернокислым аммонием — две серии из трех дали повышение эффективности (на 14 и 40%) и одна серия снизила эффективность (на 9%);

б) сернокислым натрием — также две серии из трех показали повышение эффективности (на 20 и 33%) и одна серия снизила эффективность (на 22%);

в) сернокислым магнием — все три серии дали повышение (на 18, 27 и 40%) эффективности (табл. и рис. 1).

Согласно экспериментальным данным мы полагаем, что при очистке и концентрации сывороток большое значение имеет выбор осадителей. Из взятых нами трех нейтральных солей наиболее подходящей для противочумных сывороток является сернокислый магний. Этот осадитель дал повышение эффективности во всех трех взятых для очистки сыворотках. Что касается сернокислого аммо-

<sup>1</sup> Количественные результаты наших опытов сведены в таблицы 1—5. Для большей наглядности сравнения эффективности концентрированных сывороток, полученных при различных методах, вычислен процент выживаемости мышей, а также по цифровым данным каждой таблицы построены графики. Номера таблиц и, соответствующих им графиков совпадают.



ния и сернокислого натрия, то применение этих солей в наших работах не всегда дает постоянные положительные результаты.

По методу протеолитического переваривания:

а) пепсином — две серии из трех дали повышение эффективности (на 20 и 26%) и одна серия снизила эффективность (на 26%);

б) трипсином — две серии из трех дали повышение эффективности (на 6 и 13%) и одна серия снизила эффективность (на 20%);

в) катепсином — две серии из трех дали повышение эффективности (на 7 и 20%) и одна серия снизила (на 26%) эффективность (табл. и рис. 2).

Применение пепсина, трипсина и катепсина при протеолитическом методе очистки и концентрации сывороток дало повышение превентивных свойств в 1,5—2,5 раза. Однако наряду с увеличением эффективности в двух сериях, одна концентрированная сыворотка показала резкое снижение эффективности в сравнении с нативной сывороткой.

По изоэлектрическому методу — две серии из трех показали резкое понижение эффективности (на 26 и 33%) и одна серия концентрированной сыворотки оказалась по эффективности одинаковой с нативной сывороткой (табл. и рис. 2).

По методу «КД» — эффективность одной серии концентрированной сыворотки оказалась ниже нативной (на 20%), по второй серии имелось незначительное (на 5%) повышение эффективности (табл. и рис. 3).

По методу «Диаферм-3» — обе концентрированные сыворотки показали резкое понижение эффективности (на 35 и 90%) в сравнении с нативными сыворотками (табл. и рис. 3).

Нами исследованы различные способы очистки и концентрации противочумных сывороток, а именно:

1) осаждение общих глобулинов нейтральными солями (сернокислым аммонием, сернокислым натрием, сернокислым магнием);

2) протеолитическое переваривание (пепсином, трипсином, катепсином) с последующим осаждением общих глобулинов сернокислым аммонием;

3) изоэлектрическое осаждение изолабильного глобулина;

4) «КД»;

5) «Диаферм-3».

В процессе исследования мы обратили внимание на то обстоятельство, что очистка и концентрация сывороток осаждением общих глобулинов сернокислым магнием дает сравнительно лучшие результаты, чем другие испытанные нами методы (табл. и рис. 4).

Известно, что магний в ряде биологических реакций является катализатором и активатором их. Угнетающее действие ионов магния на центральную нервную систему приобретает важное биологическое значение, так как эти ионы в организме животного могут облегчить нормальное течение катаболических и анаболических процессов.

Эти теоретические обоснования и широкое терапевтическое применение магниальных солей в медицинской практике послужило основанием к тому, чтобы отказаться от дальнейших опытов с другими методами очистки и концентрации, тем более что способ

с применением сернокислого магния дал благоприятные результаты. При применении этого метода эффективность всех трех взятых в опыт противочумных сывороток повышалась в среднем в 1,7 раза по сравнению с нативными сыворотками.

Для уточнения полученных результатов очистки и концентрации сывороток осаждением общих глобулинов сернокислым магнием нами были дополнительно поставлены опыты на большем количестве материала. Указанным способом было очищено и сконцентрировано восемь противочумных сывороток от продуцентов с различными сроками производственной эксплуатации (II, VIII, X, XIV и XVIII циклов иммунизации).

После проверки на стерильность и безвредность указанные сыворотки подвергались испытанию эффективности на лабораторных животных. Для этих опытов было взято 270 белых мышей, весом в 18—20 граммов. В каждый опыт бралось по 15 мышей. Сыворотка вводилась мышам подкожно по 0,6 мл. Через 24 часа после введения сыворотки все подопытные и контрольные животные заражались вирулентной культурой *V. pestis* (штамм № 751). Минимальная смертельная доза штамма равнялась 50 микробам, а зараженные производилось 10 D<sub>50</sub>.

Патологоанатомические данные при вскрытии животных были аналогичны указанным в предыдущих опытах. Все выжившие мыши хлороформировались также по истечении 14 суток.

В результате биологической проверки сывороток мы имели следующие показатели (табл. и рис. 5). Пять концентрированных сывороток дали повышение эффективности в среднем в 3 раза в сравнении с неконцентрированными сыворотками, две сыворотки оказались по эффективности одинаковыми с нативными и лишь одна сыворотка незначительно снизила свою эффективность (на 7%). При применении концентрированных сывороток продолжительность жизни подопытных мышей увеличилась в среднем на 3,5 суток против контроля.

Для проверки пирогенных и анафилактогенных свойств концентрированных и нативных сывороток нами были поставлены опыты на 52 кроликах.

Исследование четырех концентрированных и тех же нативных сывороток показало, что все проверенные сыворотки обладают пирогенными свойствами, не превышающими норм при выпуске высококонцентрированных и нативных сывороток (табл. 6).

Анафилактогенные свойства проверялись в одной концентрированной и в той же серии нативной сыворотке. При опыте оказалось, что концентрированная сыворотка обладает анафилактогенными свойствами, выраженными в значительно меньшей степени, нежели нативная сыворотка (табл. 7).

## ВЫВОДЫ

1. Метод очистки и концентрации противочумной сыворотки осаждением общих глобулинов сернокислым магнием можно рекомендовать как способ, заметно повышающий эффективность сыворотки (в среднем в 3 раза).

2. Метод «КД» в наших условиях не дал повышения эффективности противочумных сывороток.

3. Методы протеолитического переваривания и осаждения общих глобулинов сернокислым аммонием и сернокислым натрием наряду с повышением по некоторым сериям (в 1,5—2,5 раза) дали снижение превентивных свойств по сравнению с нативными сыворотками (на 9—26%). Следовательно, наши данные не дают оснований рекомендовать эти методы для противочумных сывороток, так как очистка и концентрация дает не всегда положительные результаты.

4. Сыворотки, концентрированные методами «Диаферм-3» и изоэлектрическим, показали резкое снижение эффективности (на 26—90%) в сравнении с нативными. Наши опыты с применением этих методов для концентрации противочумных сывороток дали отрицательные результаты.

Экспериментальные исследования по данному сообщению проводились под непосредственным руководством кандидата биологических наук Л. Е. Хунданова.

Таблица I

Эффективность противочумных сывороток, очищенных и концентрированных методами осаждения общих глобулинов нейтральными солями (сернокислым аммонием, сернокислым натрием и сернокислым магнием)  
(Выживаемость мышей в процентах)

Вид сыворотки	Сыворотка очищенная и концентрированная осаждением общих глобулинов нейтральными солями															Нативная сыворотка											
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>					Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>					Mg SO <sub>4</sub>																
	пало	выжило	% выживших	средний срок продолжительности жизни (в днях)	пало	выжило	% выживших	средний срок продолжительности жизни (в днях)	пало	выжило	% выживших	средний срок продолжительности жизни (в днях)	пало	выжило	% выживших	средний срок продолжительности жизни (в днях)	количество мышей в опыте	пало	выжило	% выживших	средний срок продолжительности жизни (в днях)	количество мышей в опыте					
	№ серии	Кол-во мышей в опыте																									
Противочумная	4	11	73,3	9,2	5	10	66,6	8,8	4	11	73,3	9,8	45	30	15	33,3	7,9	15	0	0	4,4*	45	30	15	33,3	7,9	
Контроль . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Противочумная	11	4	26,6	9,3	13	2	13,3	8,2	7	8	53,3	8,7	45	29	16	35,5	8,8	24	21	46,6	9,3	45	24	21	46,6	9,3	
Контроль . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Противочумная	6	9	60	10,2	5	10	66,6	10,6	4	11	73,3	9,5	45	15	0	0	4,2*	15	0	0	4,4*	45	15	0	0	4,4*	
Контроль . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

\* Контроль—заражение мышей культурой *B. pestis* без введения сыворотки.

Эффективность противочумных сывороток, очищенных и концентрированных методами прогеологического переваривания и изоэлектрическим (Выживаемость мышей в процентах)

Вид сыворотки	№ серии	Количество мышей в опыте	Сыворотка, очищенная и концентрированная с применением ферментов										Сыворотка, очищенная и концентрированная изоэлектрическим методом					Нативная сыворотка				
			пепсина			трипсина			катепсина				пало	% выживших	средний срок жизни (в днях)	пало	% выживших	средний срок жизни (в днях)	пало	% выживших	средний срок жизни (в днях)	
			пало	выжило	% выживших	пало	выжило	% выживших	пало	выжило	% выживших	пало										выжило
Противочумная	883	15	10	5	33,3	9,2	9,6	12	3	20	7,7	13	2	13,3	6,5	13	2	13,3	8,4			
Контроль . . .		10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10	0	0	4*			
Противочумная	885	15	15	0	0	7,6	6,4	15	0	0	8,1	15	0	0	5	11	4	26,6	5,1			
Контроль . . .		10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	9	1	10	4,7*			
Противочумная	887	15	6	9	66	11,7	8,3	6	9	60	7,7	14	1	6,6	5,4	9	6	40	7,6			
Контроль . . .		10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10	0	0	4*			

\* Контроль—заражение мышей культурой V. pestis без введения сыворотки.

Таблица 3

Эффективность противочумных сывороток, очищенных и концентрированных методами „КД“ и „Диаферм—3“  
(Выживаемость мышей в процентах)

Испытуе- мые сыво- ротки	№№ се- рий	Метод „КД“						Метод „Диаферм—3“						Нативная сыворотка									
		Взято в опыт	пало	Выжило	% вы- живае- мости	Средний срок про- должи- тельности (в днях)	Взято в опыт	пало	Выжило	% вы- живае- мости	Средний срок про- должи- тельности (в днях)	Взято в опыт	пало	Выжило	% вы- живае- мости	Средний срок про- должи- тельности (в днях)	Взято в опыт	пало	Выжило	% вы- живае- мости	Средний срок про- должи- тельности (в днях)		
Противо- чумная сыворотка	Смешан- ная серия 1 (300 и 398)	10	2	8	80	14	10	9	1	10	7,1	10	0	10	100	—	10	0	10	0	100	—	
Контроль	Смешан- ная серия 2 (699, 701, 702, 703, 705, 707 и 709)																						
		20	11	9	45	8,4	20	19	1	5	6,4	20	12	8	40	10,9	10	10	0	0	0	4,2*	
Контроль																							

\* Контроль—заражение мышей культурой *B. pestis*. без введения сыворотки.

Средние данные эффективности противочумных сывороток, очищенных и концентрированных различными методами  
(Выживаемость мышей в процентах)

Испытуемые сыворотки	Количество мышей в опыте	Мышей		% выживаемости мышей	Средний срок продолжительности жизни мышей (в днях)	Повышение	
		пало	выжило			% выживаемости мышей	сроки продолжения жизни мышей против контроля (в днях)
Очищенные и концентрированные методом "КД"	30	13	17	56,6	11,2	нет	7,1
Очищенные и концентрированные методом "Диаферм-3"	30	28	2	6,6	6,7	нет	2,6
Нативная сыворотка	30	12	18	60	10,9	—	7,9
Контроль	20	20	0	0	4,1	—	—
Очищенные и концентрированные осадением общих глобулинов $(NH_4)_2SO_4$	45	21	24	53,3	9,6	14,8	5,3
" $Na_2SO_4$	45	23	22	48,8	9,2	10,3	4,9
" $MgSO_4$	45	15	30	66,6	9,4	28,1	5,1
Нативная сыворотка	135	83	52	38,5	8,7	—	4,4
Контроль	45	45	0	0	4,3	—	—
Очищенные и концентрированные протеолитическим перевариванием пепсином	45	31	14	31,1	9,5	4,5	5,3
" " трипсином	45	33	12	26,6	8,1	нет	3,9
" " катепсином	45	33	12	26,6	7,3	нет	3,1
Очищенные и концентрированные изoeлектрическим методом	45	42	3	6,6	5,6	нет	1,4
Нативная сыворотка	45	33	12	26,6	7	—	3,8
Контроль	30	29	1	3,3	4,2	—	—

Таблица 5

Эффективность противочумных сывороток, очищенных и концентрированных осаждением общих глобулинов серноокислым магнием  
(Выживаемость мышей в процентах)

Кличка продуцентов	Классификация	Вид испытуемых сывороток	Количество мышей в опыте	Мышей		% выживаемости мышей	Средний срок продолжительности жизни мышей (в днях)	Повышение		Примечание
				пало	выжило			% выживаемости мышей	срока продолжительности жизни мышей против контроля (в днях)	
Метка	II	Концентрированная	15	6	9	60	9,1	40	4,1	
"	II	Нативная	15	12	3	20	9,8	—	4,8	
Сирена	VIII	Концентрированная	15	11	4	26,6	7,9	20	2,9	
"	VIII	Нативная	15	14	1	6,6	7	—	2,0	
Майка	XIV	Концентрированная	15	8	7	46,6	10,2	нет**)	5,2	*) Эффективность на 7% ниже нативной
"	XIV	Нативная	15	7	8	53,3	8	—	3,0	
Верный	XVIII	Концентрированная	15	7	8	53,3	9,3	46,7	4,3	
"	XVIII	Нативная	15	14	1	6,6	8,1	—	3,1	
Атом	VIII	Контроль	15	15	0	0	5	нет**)	4,6	**)
"	VIII	Концентрированная	15	10	5	33,3	10,8	нет**)	3,4	Эффективность с нативной сывороткой
Тихая	VIII	Нативная	15	10	5	33,3	9,6	—	0,5	
"	VIII	Концентрированная	15	7	8	53,3	6,7	40	4,4	
Ария	VIII	Нативная	15	13	2	13,3	10,6	—	3,6	
"	X	Концентрированная	15	11	4	26,6	9,8	нет**)	4,3	
"	X	Нативная	15	11	4	26,6	10,5	—	2,9	
Стрелка	XIV	Концентрированная	15	7	8	53,3	9,1	20	2,7	
"	XIV	Нативная	15	10	5	33,3	8,9	—		
"		Контроль	15	15	0	0	6,2	—		



Определение пирогенных свойств противочумных сыворонок, нативных, очищенных и концентрированных методом осаждения общих глобулинов сернокислым магнием

Вид испытуемых сыворонок	Кличка продуцентов	Количество кроликов в опыте	Количество введенной сыворотки внутривенно в мл	Колебание температуры					Вес кролика в кг		
				начальная температура	через 1 час	через 2 часа	через 3 часа	разница	до опыта	после опыта через 1 сутки	разница
Нативная . . . . .	Верный	1	0,2	38,5	38,5	38,8	38,7	+0,3	2,000	2,000	0
" . . . . .	"	1	1,0	38,6	38,7	38,9	38,9	+0,3	2,200	2,150	-0,050
Очищенная и концентрированная	"	1	0,2	38,9	39,1	39,0	38,9	+0,2	2,200	2,200	0
" . . . . .	"	1	1,0	38,9	39,2	39,4	38,9	+0,5	2,500	2,500	0
Нативная . . . . .	Атом	1	0,2	38,7	38,4	38,9	38,8	+0,2	2,750	2,800	+0,050
" . . . . .	"	1	1,0	38,7	38,6	38,9	39,2	+0,5	2,050	2,200	+0,150
Очищенная и концентрированная	"	1	0,2	38,1	38,6	38,2	38,4	+0,5	2,500	2,700	+0,200
" . . . . .	"	1	1,0	38,9	39,5	39,3	39,4	+0,6	2,115	2,230	+0,115
Нативная . . . . .	Майка	1	0,2	38,5	39,4	39,1	39,4	+0,9	2,090	2,090	0
" . . . . .	"	1	1,0	38,6	39,2	38,8	38,5	+0,6	2,220	2,280	+0,060
Очищенная и концентрированная	"	1	0,2	38,6	39,0	39,3	39,2	+0,7	2,330	2,410	+0,080
" . . . . .	"	1	1,0	38,8	39,1	39,4	39,3	+0,6	1,930	2,000	+0,070
Нативная . . . . .	Ария	1	0,2	38,8	38,9	38,9	38,5	+0,1	2,230	2,260	+0,030
" . . . . .	"	1	1,0	38,6	39,1	39,4	39,2	+0,8	2,020	1,990	-0,030
Очищенная и концентрированная	"	1	0,2	38,8	39,1	39,0	39,6	+0,8	2,040	1,980	-0,060
" . . . . .	"	1	1,0	39,3	40,3	39,6	39,0	+1,0	1,950	1,980	+0,030



График 1

Выживаемость мышей при введении очищенных и концентрированных прогивочумных сыворонок при применении различных нейтральных солей (Выживаемость мышей в процентах)

Обозначение  
очищ. и  
концен. р. сы-  
воротки

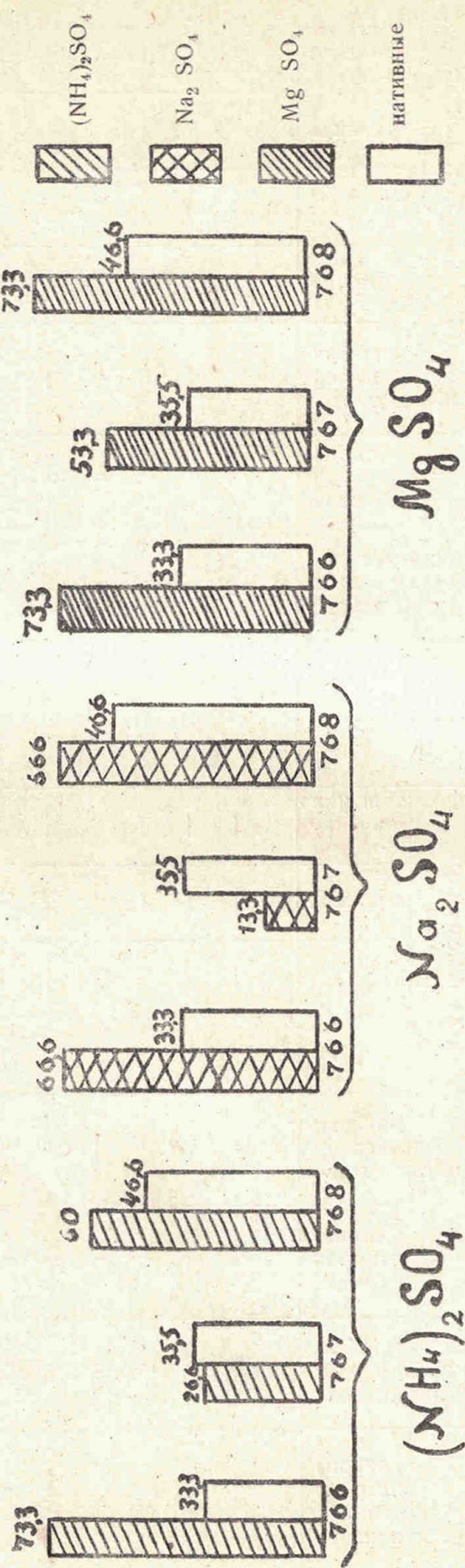
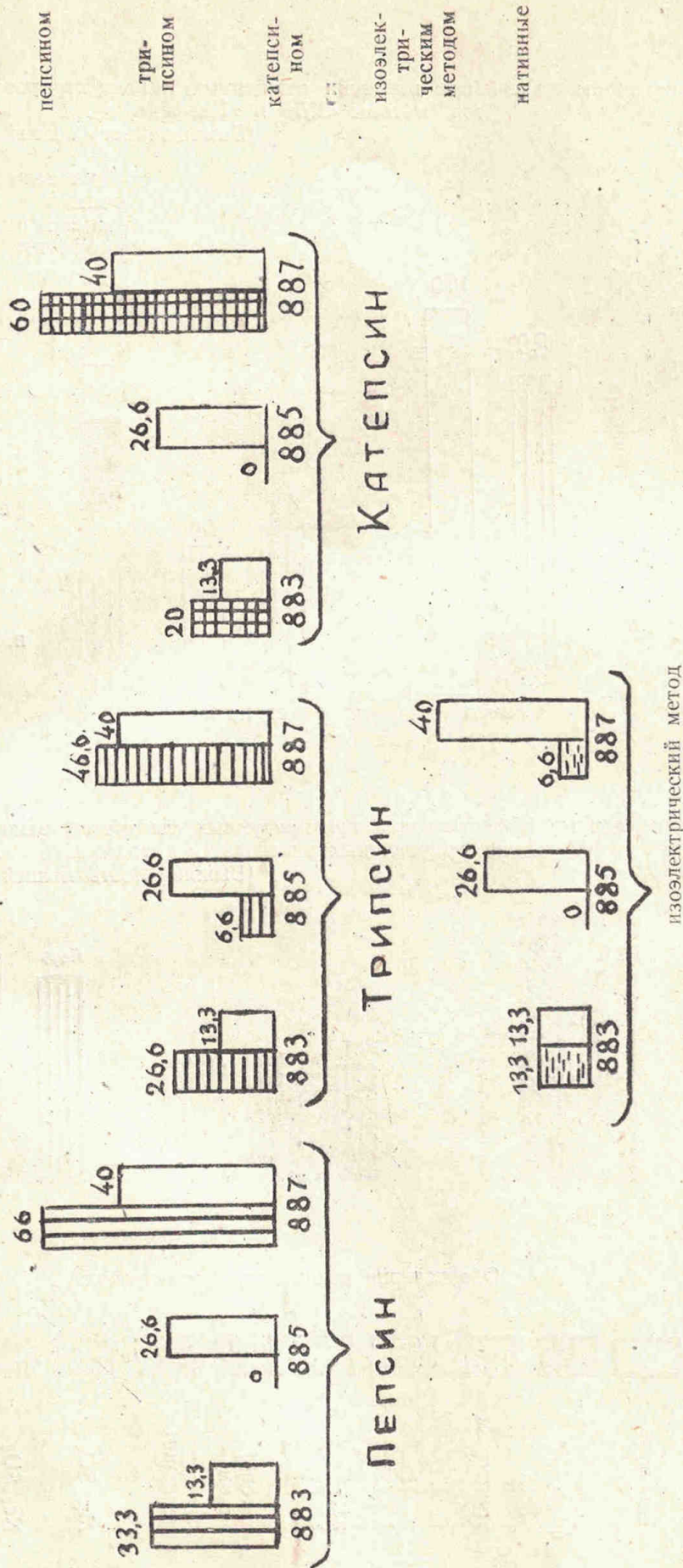


График 2

Выживаемость мышей при введении очищенных и концентрированных противочумных сыворонок (методы протеолитического переваривания и изоэлектрический).  
(Выживаемость мышей в процентах)

Обозначения  
и конц. сыво-  
ротки



пепсином

три-  
псином

катепси-  
ном

КАТЕПСИН

ТРИПСИН

ЛЕПСИН

изоэлектрический метод

Выживаемость мышей при введении очищенных и концентрированных сывороток (методы «КД» и «Диаферм-3»)  
(Выживаемость мышей в процентах)

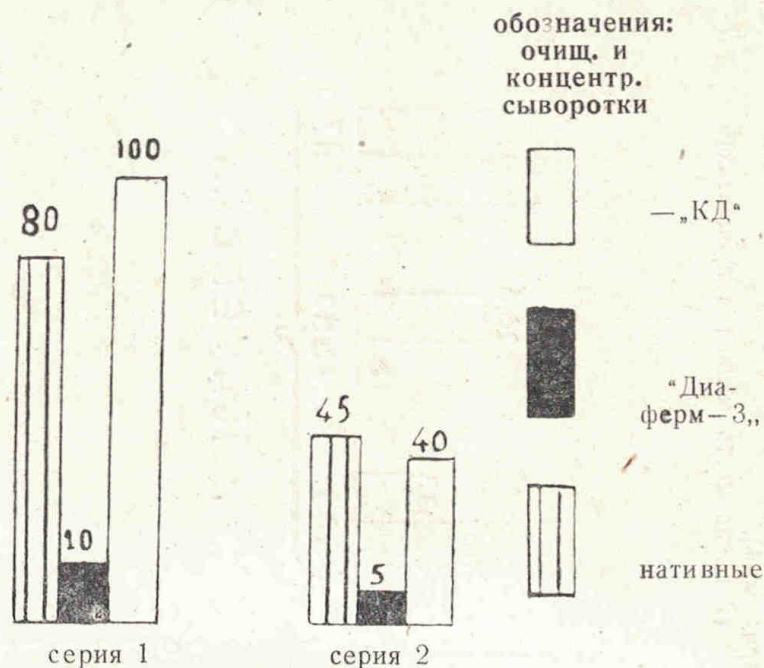
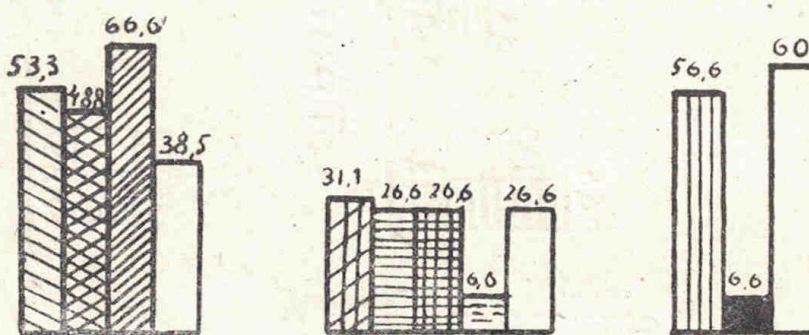


График 4

Средние данные эффективности противочумных сывороток очищенных и концентрированных различными методами.  
(Выживаемость мышей в процентах)



Обозначения очищ. и конц. сывороток.

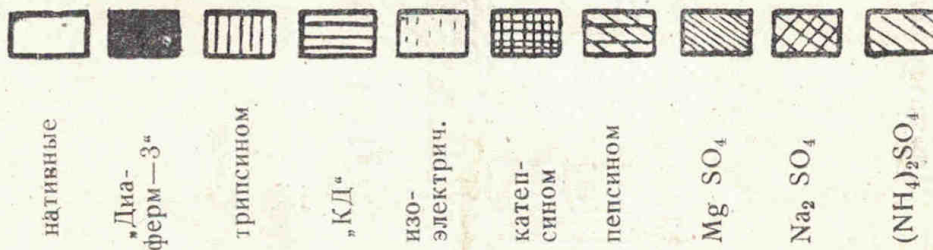
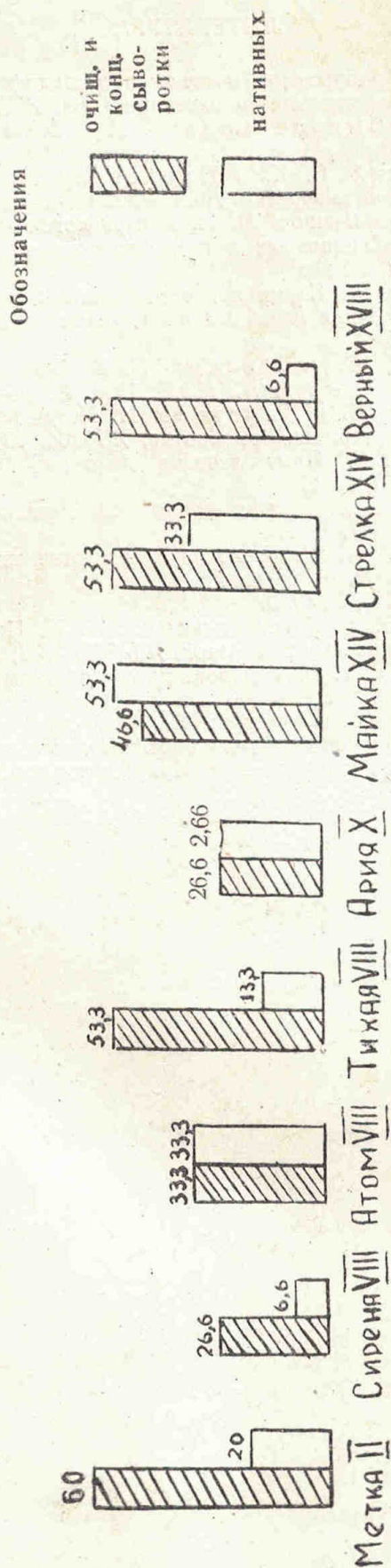


График 5

Эффективность противочумных сыворок, очищенных и концентрированных  
осаждением общих глобулинов сернокислым магнием.  
(Выживаемость мышей в процентах)



## ЛИТЕРАТУРА

1. Адо А. Д. К вопросу об очистке противодифтерийной сыворотки от балластных белков путем пепсинного переваривания, ЖМЭИ, 1943, № 6.
2. Под редакцией Выгодчикова Г. В. и Алымова А. Я. Руководство по сывороточному и вакцинному делу, Медгиз, 1943.
3. Держговский С. К. и Предтеченский С. Н. Концентрирование противодифтерийной сыворотки. Архив биолог. наук, т. XIV, вып. 1—2, 1908.
4. Жуков-Вережников Н. Н. Иммунология чумы. Медгиз, 1940.
5. Левин Я. В. Очищенные и концентрированные сыворотки. Советский врачебный журнал, 1937, № 24.
6. Маркович А. В. Сорок лет отечественных исследований в области очищения и концентрирования лечебных и профилактических сывороток, ЖМЭИ, 1949, № 9.
7. Маркович А. В. и Павлов П. В. Очистка и концентрирование противоменингококковых сывороток, ЖМЭИ, 1939, № 11—12.
8. Маркович А. В. и Хаустова И. М. Действие пепсина на белки и антиоксин противодифтерийной сыворотки, ЖМЭИ, 1943, № 12.
9. Овсеевич Н. Г. Опыт лечения дифтерии очищенной сывороткой «Диаферм», ЖМЭИ, 1950, № 2.
10. Плещицер А. Я. Биологическая роль магния. Успехи современной биологии, т. XL, вып. 1 (4), 1955.
11. Ушакова А. А. Изучение анафилактогенных свойств антиоксигических лошадиных сывороток, очищенных разными методами. Бюллетень по обмену опытом работы ИЭМ, 1952, № 2/40.
12. Холчев Н. В. и Колесникова Л. И. Исследования по очистке и концентрации противокоревых сывороток, ЖМЭИ, 1947, № 5.
13. Шаповалова Т. В. К пирогенным свойствам очищенных и концентрированных сывороток. Бюллетень по обмену опытом работы ИЭМ, 1952, № 2/40.
14. Шершнева П. А., Шкурко Е. Д., Лясковская Е. И. и Хунданов Л. Е. Очистка и концентрация противочумных сывороток нейтральными солями. Тезисы докладов конференций Иркутского противочумного института, вып. 1, 1955.
15. Pirie H. and Grosset E. Concentrated Antiplague serum. The British Journal of Exper. Path. V, XVI, 1935.

Е. И. Лясковская, Л. Е. Хунданов,  
Е. Д. Шкурко

### ИЗУЧЕНИЕ ЗАВИСИМОСТИ КАЧЕСТВА ПРОТИВОЧУМНОЙ СЫВОРОТКИ ОТ НЕКОТОРЫХ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ ПРОДУЦЕНТОВ

Настоящая работа ставит целью выяснение зависимости эффективности сывороток от продолжительности эксплуатации, температурной реакции и возраста продуцентов, а также возможной связи между агглютинационным титром и эффективностью сывороток.

Материалом для данной работы послужили практические наблюдения, накопленные в процессе производственной работы.

Продуценты, взятые под наблюдение, имели однотипный цикл эксплуатации, состоящий из периода иммунизации возрастающими дозами антигена, двукратных кровопусканий с интервалом через день и отдыха после них.

Иммунизация животных проводилась 2-суточной агаровой культурой *V. pestis* EB, выращиваемой при 37°C.

Исследуемые продуценты были подразделены на две группы, в зависимости от срока наблюдения.

Первую группу составляли 8 голов лошадей, 2 из которых были в возрасте 3—7 лет, а остальные 6 голов — в возрасте 12—16 лет. Данная группа продуцентов была под наблюдением около одного года.

Вторая группа продуцентов состояла из 9 лошадей, причем две из них были в возрасте 2 лет, пять — 3 лет и две — 6—8 лет. Указанные продуценты были под наблюдением на протяжении двух лет.

Биологическая проверка эффективности исследуемых сывороток проводилась на белых мышах, причем сыворотки, полученные после I цикла эксплуатации, были проверены на 285 белых мышах. При определении качества сывороток от этих же продуцентов при дальнейшей их эксплуатации (VI и IX цикла) нами были взяты в опыт 190 мышей. Сыворотка вводилась животным подкожно, одновременно с контрольным заражением. Последнее проводилось 20 Dlm вирулентного штамма *V. pestis* № 143.

Об эффективности сывороток мы судили по проценту выживаемости подопытных животных и сроку продления их жизни по сравнению с контролем.

Реакция агглютинации ставилась с двухсуточной агаровой культурой *V. pestis* EB, выращенной при температуре 37°C. Бактериальная эмульсия готовилась на физиологическом растворе.



Сыворотки разводились 1 : 20, 1 : 40, 1 : 80 и т. д. до 1 : 1280. Чтение результатов реакции производилось после двухчасового выдерживания в термостате и 24-часового при комнатной температуре.

Для удобства накопленный нами материал рассматривается в определенной последовательности.

### 1. Влияние длительности эксплуатации продуцентов на эффективность сыворотки

Материалы, собранные по данному разделу по первой группе продуцентов, представлены в табл. 1.

Таблица 1

Превентивные свойства сывороток продуцентов первой группы после I и VI циклов эксплуатации

Кличка продуцента	Воз- раст	Превентивные свойства сывороток после I цикла		Превентивные свойства сыво- роток после VI цикла	
		% выжи- ваемости	срок прод- ления жизни (в сутках)	% выжи- ваемости	срок прод- ления жизни (в сутках)
Аргентина . . . . .	16	0	0,2	0	0,8
Тихая . . . . .	3	86,6	2,8	20	2,5
Орлик . . . . .	14	26,6	1,3	20	3,8
Сирена . . . . .	13	0	0,2	30	2,4
Атом . . . . .	16	13,3	3,2	30	5,5
Бойкая . . . . .	7	40	2,2	50	6
Западная . . . . .	12	60	0,6	60	5
Ария . . . . .	14	6,6	0,3	0	1,1

Как видно из таблицы, у большинства продуцентов первой группы эффективность их сывороток на протяжении года эксплуатации была более или менее стабильной (Аргентина, Орлик, Бойкая, Западная, Ария).

Продуценты Западная, Бойкая, Тихая давали одного и того же качества сыворотку, в то время как Аргентина ни после первого, ни после шестого цикла эксплуатации эффективной сыворотки не дала.

Сыворотка продуцента Арии обладала незначительными превентивными свойствами после I цикла, но совершенно не обладала ими после VI цикла.

В то же время после года эксплуатации два продуцента, Сирена и Атом, стали давать лучшие сыворотки, причем у последнего продуцента произошло резкое изменение в качестве сыворотки: из некачественной сыворотки, т. е. не обладающей превентивными свойствами, сыворотка стала более эффективной (30% выживаемости подопытных животных). Одновременно наблюдалось противоположное изменение качества сыворотки у другого продуцента (Тихая), который после I цикла эксплуатации давал высокоэффективную сыворотку, а после VI цикла мы получили сыворотку более низкого качества.

Материалы, собранные по второй группе продуцентов, приводятся в табл. 2.

Таблица 2

Превентивные свойства сывороток продуцентов второй группы после I и IX циклов эксплуатации

Кличка продуцента	Воз- раст	Превентивные свойства сывороток после I цикла		Превентивные свойства сы- вороток после IX цикла	
		% выжи- ваемости	срок прод- ления жизни (в сутках)	% выжи- ваемости	срок прод- ления жизни (в сутки)
Ликер . . . . .	3	33,3	2,5	20	4,3
Чайка . . . . .	2	66,6	10,4	0	0,3
О с а . . . . .	2	93,3	9,2	40	6,6
Лысанный . . . . .	8	0	0,3	0	0,4
Стрелка . . . . .	3	13,3	0,2	0	0,5
Тумб . . . . .	6	80	6,8	20	7,1
Актриса . . . . .	3	6,6	0,6	20	8,8
Диана . . . . .	3	0	0	0	0
Хаптон . . . . .	3	0	0	20	4,8

При анализе собранного материала во второй группе продуцентов следует отметить, что лошади этой группы были более молодого возраста (2—8 лет), несмотря на это мы имеем тот же характер изменения превентивных свойств сывороток, что и в первой группе. Так, например, 3 продуцента этой группы дали по своему качеству стабильные сыворотки (Лысанный, Диана, Ликер), причем сыворотки Лысаного и Дианы как были неэффективными, так и остались ими после двух лет эксплуатации. В то же время сыворотка продуцента Ликера стойко была эффективной.

Кроме того, в данной группе сывороток наблюдались и резкие колебания их качества как в сторону улучшения (Актриса, Хаптон), так и ухудшения (Оса, Чайка, Стрелка, Тумб).

Итак, эффективность сывороток — непостоянное свойство, и качество сыворотки зависит от многих факторов: метода введения и дозы антигена, срока эксплуатации и индивидуальных особенностей продуцентов, которые, по-видимому, обуславливаются типовыми особенностями их нервной системы (Желтенков, Монаенков).

При одних и тех же условиях мы наблюдали у части продуцентов стабильное качество сыворотки, а у других колебание как в сторону улучшения, так и снижения качества, причем у продуцентов второй группы, эксплуатируемых 2 года, стабильность превентивных свойств была выражена в меньшей степени, и почти в половине случаев наблюдалось снижение эффективности сывороток, вплоть до полной потери (Чайка). Иными словами, по-видимому, с увеличением срока эксплуатации продуцентов превентивные свойства их сывороток постепенно снижаются.

## 2. Температурная реакция у продуцентов и превентивные свойства их сывороток

Температурная реакция продуцентов, как результат введения антигена, разнообразна у различных лошадей. Одни продуценты дают повышение температуры в той или иной степени, а другие не дают ее.

Единого мнения по этому вопросу среди специалистов сывороточного дела не имеется. Одни считают, что при производстве качественных сывороток наличие температурной реакции на введение антигена обязательно (Власьевский, Гогин, Левитов), причем предлагают использовать температурную реакцию для определения дозировки антигена или отмены его при очень бурном и длительном течении ее. Отсутствие температурной реакции они рассматривают как неблагоприятный признак в смысле успеха иммунизации. Другие придерживаются совершенно противоположного мнения и температурную реакцию считают неблагоприятным фактором при получении качественной антитоксической сыворотки и верным признаком неудачного хода иммунизации (Бутягин). Они предлагают проводить иммунизацию осторожно, малыми дозами антигена.

Лукин публикует результаты наблюдений над 35 продуцентами противостолбнячной сыворотки. Только 18 лошадей из всех исследуемых дали повышение температуры, тогда как средний титр антитоксина практически был один и тот же в обеих группах лошадей, давших температурную реакцию и не имевших ее. Автор делает вывод, что температурная реакция животного на вводимый антиген не является показателем иммунологической реактивности продуцента.

Работ о температурной реакции противочумных продуцентов и превентивных свойствах их сывороток в доступной нам литературе мы не нашли.

Собранный материал по этому разделу по первой группе продуцентов представлен в табл. 3.

Как видно из таблицы, первая инъекция антигена вызвала повышение температуры; на второе введение — все продуценты дали также температурную реакцию той или иной степени; на третью инъекцию половина продуцентов вновь дала температурную реакцию, тогда как вторая половина лошадей этой группы имела нормальную температуру. На четвертую инъекцию — вновь у трех продуцентов наблюдалось повышение температуры в различной степени. Остальные три введения чумной культуры у всех продуцентов данной группы вызывали температурную реакцию различной длительности (от 8 до 36 часов).

Итак, у всех лошадей данной группы на введение антигена в I цикле наблюдалась температурная реакция, но длительность ее у разных продуцентов была различной. В то же время и сыворотка, получаемая от этих продуцентов, была весьма различной по качеству; колебания последнего были очень большими: имелись как высокоэффективные сыворотки, дающие 60—80% выживаемости животных (Западная, Тихая), так же имелись две сыворотки, совершенно не обладающие превентивными свойствами (Аргентина, Сирена). Сопоставляя температурную реакцию продуцентов этих двух противоположных по качеству сывороток (Западная, Тихая,

Аргентина и Сирена), мы видим, что ни высота подъема температуры, ни длительность течения ее не оказывают влияния на качество сыворотки. Иными словами, нам не удалось установить прямой зависимости между высотой и длительностью температурной реакции продуцентов и качеством их сывороток.

Далее мы проанализировали материалы, собранные от этих же продуцентов в VI цикле эксплуатации. В результате полученных данных следует отметить, что в большинстве своем (5 из 8) продуценты не дали повышения температуры на последующее введение антигена, сыворотка этих лошадей, как и после первого цикла, была различной по эффективности; имелись сыворотки, обеспечивающие 30—50% выживаемости животных, а также были две сыворотки, не обладающие совершенно превентивными свойствами. 3 лошади этой же группы (Тихая, Западная, Сирена) хотя и дали температурную реакцию, но их сыворотка была весьма различной по эффективности (20—60% выживаемости животных).

Аналогичный анализ был проведен по данным, собранным у продуцентов второй группы (табл. 4).

Как видно из этой таблицы, на протяжении первого цикла эксплуатации наблюдалась выраженная температурная реакция у большинства продуцентов на введение чумного антигена. Сыворотка, полученная от этих продуцентов, была неодинакового качества, колебания были очень большими: имелись сыворотки, обеспечивающие 93% выживаемости, и были сыворотки, не обладающие превентивными свойствами (Диана, Лысаний).

Длительность температурной реакции у пяти продуцентов этой группы была практически одной и той же (2—3 суток), тогда как по превентивным свойствам сыворотки этих продуцентов были весьма различными: одна не обладала превентивными свойствами (Лысаний), а другие обеспечивали 13—93% выживаемости подопытных животных.

В IX цикле у 6 продуцентов из 9 ни одна из трех первых инъекций не вызывала температурной реакции. У трех последняя доза антигена (350 млрд) вызывала небольшое повышение температуры до 39,8° (Оса, Тумб, Диана), тогда как 3 другие (Ликер, Лысаний, Стрелка) даже и в этом случае не дали температурной реакции. Превентивные свойства сывороток продуцентов, дающих разовое повышение температуры, колебались в больших пределах: при введении двух сывороток белым мышам было отмечено 20—40% выживаемости животных, а при введении третьей сыворотки все подопытные животные погибли наравне с контрольными (Диана). Сыворотки двух продуцентов, устойчиво не дающих температурной реакции, не обладали превентивными свойствами, и только третий продуцент (Ликер) дал сыворотку, обеспечивающую 20% выживаемости подопытных животных.

Три последних продуцента из этой второй группы давали некоторую температурную реакцию: все они имели повышение температуры на вторую инъекцию антигена, а 2 из них и на четвертую, последнюю инъекцию (Хаптон, Чайка). Сыворотки этих двух лошадей, наиболее реагирующих повышением температуры в IX цикле, опять же были различного качества: одна из этих сывороток обеспечивала 20% выживаемости животных, вторая (Чайка) не обладала этими свойствами.

Температурная реакция продуцентов первой группы и превентивные свойства их сыворонок

Кличка продуцента	Цикл эксплуатации	Температурная реакция; длительность ее в часах							Превентивные свойства противочумных сыворонок	
		I инъекция	II инъекция	III инъекция	IV инъекция	V инъекция	VI инъекция	VII инъекция	% выживаемости	срок продления жизни (в днях)
Аргентина . . .	I	норма	39,2°;8	норма	норма	39,4°;36	39,3°;48	39,3°;48	0	0,2
	VI	норма	норма	норма	норма	—	—	—	0	0,8
Тихая . . . . .	I	"	39°;24	"	"	38,8°;24	39,4°;48	40,5°;60	86	2,8
	VI	"	39,2°;8	"	"	—	—	—	20	2,5
Орлик . . . . .	I	"	39,6°;24	"	"	40°;48	39°;48	норма	26	1,3
	VI	"	норма	"	"	—	—	—	20	3,8
Сирена . . . . .	I	"	39°;12	"	"	39,9°;24	40,1°;10	39,8°;72	0	0,2
	VI	"	38,9°;10	"	"	—	—	—	30	2,4
Атом . . . . .	I	"	39,2°;10	39,2°;8	норма	38,8°;24	39,4°;48	39,6°;48	13,3	3,2
	VI	"	норма	норма	норма	—	—	—	30	5,5
Бойкая . . . . .	I	"	39,1°;8	норма	норма	38,8°;24	39,8°;48	39,0 ; 4	40	2,2
	VI	"	норма	норма	норма	—	—	—	50	6
Западная . . . . .	I	"	норма	39,2°;24; 39,6°;12	норма	38,9°;36	норма	39,4°;88	60	0,6
	VI	"	38,8°;10	норма	норма	—	—	—	60	5
Ария . . . . .	I	39,1°;36	39,4°;24	39,7°;36	39,9°;24	39,4°;24	38,9°;24	39,6°;24	6,6	0,3
	VI	норма	норма	норма	норма	—	—	—	0	1,1

Температурная реакция и превентивные свойства сывороток продуцентов второй группы

Кличка продуцента	Цикл эксп-луата-цин	Температурная реакция и ее длительность в часах после инъекции антигена										Превентивные свойства сывороток	
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	% вы-живае-мости (в сутки)	продление жизни (в сутки)	
Ликер	I	норма	39,5°;24	40°;96	40°;72	39,3°;12	40°;48	40,5°;36	40,5°;69	40,1°;54	33	2,5	
	IX	норма	норма	норма	норма	—	—	—	—	—	20	4,3	
Чайка	I	норма	39,3°;24	39°;12	39,3°;12	—	—	—	—	—	0	0,3	
	X	норма	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
Оса	I	40,1°;36	норма	40°;36	39°;12;39°;12	40,5°;96	39,9°;48	40°;12	40,3°;36	40,8°;60	93	9,2	
	IX	норма	норма	норма	норма	—	—	—	—	—	40	6,6	
Лысаный	I	норма	39,1°;24	39,2°;48	40,3°;48	39,1°;36	39,9°;36	39,2°;24	39,5°;36	40,4°;48	0	0,3	
	IX	норма	норма	норма	норма	—	—	—	—	—	0	0,4	
Тумб	I	норма	норма	норма	норма	—	—	—	—	—	20	7,1	
	IX	норма	норма	норма	38,9°;12	—	—	—	—	—	—	—	
Актриса	I	39,5°;12	40,1°;48	39,6°;48	39,9°;48	39,6°;48	40,6°;56	39,3°;24	40,3°;56	40°;56	6,6	0,6	
	IX	норма	39,9°;12	норма	норма	—	—	—	—	—	20	8,8	
Диана	I	норма	норма	39,5°;36	норма	40,2°;84	39,8°;56	39,5°;36	39,3°;12	40,1°;36	0	0	
	IX	норма	норма	норма	39,8°;12	—	—	—	—	—	0	0	
Хаптон	I	норма	норма	норма	норма	—	—	—	—	—	—	—	
	IX	39,3°;24	39,0°;36	норма	39,3°;24	—	—	—	—	—	20	4,8	
Стрелка	I	39,2°;12	39,5°;65	39,6°;48	40,6°;48	39,8°;48	39,7°;72	39,8°;72	40,1°;72	40,2°;72	13	0,2	
	IX	норма	норма	норма	норма	—	—	—	—	—	0	0,5	

Таким образом, прямой зависимости между температурной реакцией продуцентов на введение чумного антигена и превентивными свойствами полученных от них сывороток нам установить не удалось.

### 3. Влияние возраста продуцента на превентивные свойства сывороток

Мнения специалистов сывороточного дела по данному вопросу расходятся: одни считают, что период физиологической зрелости лошадей (4—12 лет) наиболее приемлем для использования их как продуцентов (Власьевский, Гогин, Фрид и Зибицкер, Лукин), другие отдают предпочтение лошадям более молодого возраста — не старше 7 лет (Жуков-Вережников). Проводя наблюдения в I цикле за 17 продуцентами в возрасте от 2 до 16 лет, мы разбили их на две группы: 1) 2—6 лет и 2) 6—16 лет.

Собранный материал по этому разделу представлен в табл. 5.

Таблица 5

Возраст продуцентов и качество полученной от них сыворотки

Возраст продуцента	Общее число продуцентов в опыте	Число продуцентов, дающих сыворотки		
		с отсутствием превентивных свойств	с % выживае- мости белых мышей до 20	с % выживаемо- сти белых мышей свыше 20
2—6 лет	8	2	2	4
6—16 „	9	3	2	4

Данные, приведенные в таблице, показывают, что по существу никакой разницы нет между превентивными свойствами сывороток обеих групп продуцентов. Иными словами, лошади и 2 лет и 16 лет могут быть использованы как продуценты.

### 4. Соотношение превентивных свойств и агглютинационного титра сывороток

Собранный материал по этому разделу представляется в табл. 6.

Из таблицы видно: 1) как при низком титре 1 : 20, так и при высоком 1 : 1280 мы имеем однотипные сыворотки по эффективности; 2) при одном и том же титре сыворотка может быть высокоэффективной, дающей 40—86% выживаемости животных, и не обладать совершенно превентивными свойствами; 3) при совершенно различных титрах сыворотка может быть одного и того же качества: например, при 1 : 20 и 1 : 640, 1 : 40 и 1 : 1280; 4) сыворотки, давшие увеличение агглютинационного титра, одновременно дали резкое снижение превентивных свойств, и наоборот. Так, агглютинационный титр сыворотки Чайки резко возрос (с 1 : 160 до 1 : 1280), но превентивные свойства сыворотки снизились до полной их потери. Такое же отсутствие зависимости агглютинационного титра и превентивных свойств сывороток мы наблюдали у других

Таблица 6

## Агглютинационные титры и превентивные свойства сывороток

Кличка производителя	Цикл иммуни- зации	Агглютина- ционный титр	Превентивные свойства противо- чумных сывороток	
			% выживаемости	срок продления жизни (в днях)
1	2	3	4	5
Атом . . . . .	I	1:20	13,3	3,2
Западная . . . . .	I	"	33,3	4
Западная . . . . .	III	1:20	60	0,6
Тихая . . . . .	I	"	86,8	2,8
Аргентина . . . . .	I	"	0	0,2
Атом . . . . .	III	"	20	0,8
Тумб . . . . .	I	1:40	53,3	10,8
Тумб . . . . .	IX	"	20	7,1
Хаптон . . . . .	I	"	0	0
Ликер . . . . .	I	"	26,7	3,5
Сирена . . . . .	I	"	6,6	2
Атом . . . . .	VI	"	30	5,5
Хаптон . . . . .	VI	"	10	1,5
Орлик . . . . .	VI	1:80	26,7	1,3
Лысанный . . . . .	VI	"	0	1,6
Западная . . . . .	VI	"	60	5
Диана . . . . .	I	"	0	0
Сирена . . . . .	III	1:160	0	-0,2
Чайка . . . . .	I	"	66,6	10,4
Бойкая . . . . .	III	"	40	2,2
Оса . . . . .	I	"	93,3	9,2
Аргентина . . . . .	III	"	10	0,2
Ликер . . . . .	VI	"	0	4,1
Диана . . . . .	VI	"	0	0,1
Сирена . . . . .	VI	"	0	-1,8
Стрелка . . . . .	I	1:640	13,3	0,2
Оса . . . . .	VI	"	30	3
Стрелка . . . . .	IX	"	0	0,5
Сирена . . . . .	VI	"	30	2,4
Бойкая . . . . .	VI	"	50	6
Тумб . . . . .	III	1:320	10	1,7
Дукат . . . . .	XV	"	20	4,9
Омар . . . . .	XV	"	0	0,3
Оса . . . . .	IX	1:1280	40	6,6
Ликер . . . . .	IX	"	20	4,3
Чайка . . . . .	IX	"	0	0,3
Ария . . . . .	VI	"	0	1,1



продуцентов (Тумб, Ликер, Диана и др.). Таким образом, эти данные еще раз подтверждают мнение, высказанное ранее одним из нас (Лясковская), об отсутствии прямой зависимости между превентивными свойствами противочумных сывороток и агглютинационным их титром.

На основе этого использования пробирочной реакции, в частности реакции агглютинации, с целью оценки качества противочумных сывороток мы считаем не приемлемым.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В процессе эксплуатации противочумных продуцентов одним из основных факторов, оказывающих влияние на превентивные свойства этих сывороток, являются индивидуальные особенности каждой лошади. Так при одинаковых условиях (качество и количество антигена, метод его введения и т. д.) превентивные свойства указанных сывороток у одних продуцентов в процессе эксплуатации могут оставаться постоянными, а у других изменяются как в сторону повышения, так и снижения их.

Для оценки качества сыворотки не может быть использована реакция агглютинации, так как зависимости между величиной агглютинационного титра, динамикой его и превентивными свойствами установить не удается.

В то же время отсутствие температурной реакции у продуцентов на введение антигена так же не гарантирует получение сыворотки, обладающей более высокими превентивными свойствами.

Лошади в возрасте 6—16 лет могут быть использованы как продуценты. Их сыворотки обладают такими же качествами как и полученные от 2—6-летних продуцентов.

Следует сделать вывод о необходимости после первого цикла, а затем периодически (два раза в год) проводить проверку превентивных свойств сывороток от каждого продуцента в отдельности. При обнаружении сывороток, не обладающих превентивными свойствами, следует таких продуцентов иммунизировать по индивидуальной схеме.

После трехкратного получения сывороток, не обладающих превентивными свойствами, необходимо выбраковывать продуцентов, дающих такие сыворотки.

П. А. Шершнев, Л. Е. Хунданов,  
Е. Д. Шкурко, Н. П. Леонов

### ОПЫТ ПОЛУЧЕНИЯ СУХОЙ ПРОТИВОЧУМНОЙ СЫВОРОТКИ И ИЗУЧЕНИЕ ЕЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ

Некоторые биологические препараты до настоящего времени продолжают выпускаться в жидком виде. Это обстоятельство зачастую приводит к преждевременному снижению иммуно-биологических и физико-химических качеств указанных препаратов. Кроме этого большим недостатком является потребность в специальных помещениях при хранении жидких бакпрепаратов, а также транспортировка их связана с рядом трудностей.

Отечественные и зарубежные авторы на основании длительного изучения способов высушивания утверждают, что сухие биологические препараты, высушенные методом вакуум-вымораживания, не уступают по своим качествам жидким препаратам и даже по некоторым показателям превосходят их, например по термоустойчивости, длительности хранения, удобству транспортировки и т. д. Эти обстоятельства дают основание считать, что высушенные биопрепараты должны войти в медицинскую практику.

В связи с этим в нашей работе была поставлена задача предварительной проверки эффективности высушенной противочумной сыворотки при длительном ее хранении. Для этого нами были взяты три серии лечебных сывороток (№ 644, 645 и 648), изготовленные Иркутским противочумным институтом.

Указанные серии сывороток были подвергнуты высушиванию методом вакуум-вымораживания. Высушивание сывороток производилось на коллекторном вакуум-аппарате конструкции Иркутского противочумного института. Поглощение водяных паров высушиваемого препарата производилось прокаленным гранулированным гипсом.

Перед высушиванием сыворотка, разлитая в ампулы по 2 мл, замораживалась в охлаждающей смеси (3 части мелкоизмельченного льда и 1 часть поваренной соли) при температуре  $-21^{\circ}$ . Затем ампулы с замороженной сывороткой присоединялись к аппарату и производилось высушивание. Дополнительное подмораживание ампул охлаждающей смесью производилось с момента создания вакуума 0,1—0,2 миллиметра ртутного столба, в продолжение 4 часов. По прошествии этого времени ванночки с охлаждающей смесью убирались, и в дальнейшем высушивание производилось при комнатной температуре. Высушивание заканчивалось

через 18—20 часов, и ампулы с сухими сыворотками запаивались под вакуумом.

Высушенная сыворотка представляла собой легкое губчатое вещество светло-коричневого цвета. Она растворялась при соблюдении стерильности дистиллированной водой до первоначального объема (2 мл). Растворение происходило полностью при встряхивании, в среднем за 5—10 минут, и получалась прозрачная, слегка окрашенная в соломенно-желтый цвет жидкость.

Для сравнительной проверки эффективности сухих сывороток с жидкими нами было поставлено два опыта на 235 белых мышах. Сыворотка лабораторным животным вводилась подкожно по 0,6 мл. Через 1—2 часа после введения сыворотки все подопытные и контрольные мыши подвергались заражению. Контрольное заражение животных производилось вирулентным штаммом *V. pestis* № 143, смертельная доза которого равнялась 100 микробам, а заражение производилось 10 Dlm.

У всех павших мышей при вскрытии мы находили типичную патологоанатомическую картину чумы. Все выжившие мыши через 14 дней были захлороформированы и вскрыты. Культура чумы в большинстве случаев не выделялась, а также в мазках-отпечатках из органов не были найдены биполяры.

При биологической проверке эффективности жидких и сухих противочумных сывороток нами установлены следующие выводы.

Сухие противочумные сыворотки, полученные методом вакуум-вымораживания, по эффективности не уступают нативным сериям сывороток. При длительном хранении их (свыше 2 лет) они в одинаковой мере с жидкими сыворотками сохраняют свои качества (см. таблицу).

Эффективность сухих и жидких сыворонок при длительном хранении

В и д сыворонок	I О П Ы Т				II О П Ы Т						
	дата опыта	белых мышей (штук)		% выживаемости мышей	средняя продолжительность жизни мышшей (в днях)	дата опыта	белых мышей (штук)		% выживаемости мышей	средняя продолжительность жизни мышшей (в днях)	
		взято в опыт	пало				выжило	взято в опыт			пало
Противочумная сыворотка жидкая . . . . .	28/1 1952 г.	60	38	22	36,7	6,7	45	34	11	24,4	8
Противочумная сыворотка сухая . . . . .	"	60	38	22	36,7	8,9	45	35	10	22,2	7,6
Контроль без введения сыворонок . . . . .	"	10	10	0	0	4,5	15	15	0	0	5,3

Л. Е. Хунданов, Е. Д. Шкурко

## ДЕЙСТВИЕ БИОМИЦИНА НА ХОЛЕРНУЮ ИНФЕКЦИЮ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Блестящие идеи Пастера и Мечникова об использовании явлений микробного антагонизма для целей практической медицины не перестают привлекать к себе внимание исследователей.

Современная наука знает большое количество микробов-антагонистов и множество антибиотических препаратов, давших прекрасные результаты в лечении различных инфекционных заболеваний.

Одним из средств, заслуживающих наибольшего внимания, является новый отечественный антибиотик — биомицин, который оказывает сильное бактерицидное действие на многие грамположительные и грамотрицательные микробы.

Биомицин — солянокислый кристаллический препарат типа ауреомицина, мало токсичен, обладает широким антибактериальным действием, быстро всасывается и сравнительно медленно выделяется из организма, кумулятивным действием не обладает.

В доступной нам литературе мы не нашли сообщений об испытании действия биомицина на холерную инфекцию.

В настоящем сообщении излагаются результаты активности действия биомицина на холерный вибрион *in vitro* и на экспериментальную холерную инфекцию мышей.

При изучении этого препарата в отношении его активности к холерному вибриону *in vitro* нами применялась в основном методика, описанная в работе Коробковой и Гаузе при испытании действия стрептомицина на чумной микроб и холерный вибрион *in vitro*.

Для определения активности препарата нами было взято 5 штаммов холерного вибриона — 11, 16, 140, 143, 1488.

Испытание антибактериального действия препарата по отношению к различным штаммам холерного вибриона проводилось как на жидкой, так и плотной питательной среде.

При изучении активности действия биомицина на плотной питательной среде нами была применена следующая методика: приготавливалась эмульсия различных штаммов холерного вибриона на физиологическом растворе густотой в 1 млрд. микробов в 1 мл по оптическому стандарту. Приготовленная эмульсия засеивалась на чашки с агаром; на подсушенную, засеянную культурой поверхность наносился пипеткой в виде капли или дорожки биомицин в концентрации 1000 и 10000 единиц в 1 мл бульона, после чего по-

севы помещались в термостат при температуре 37°. Действие испытуемого препарата учитывалось в течение 7 дней. При просмотре чашек через 24 часа на месте растекшейся капли или дорожки биомицина в концентрации как 10000, так и 1000 единиц, была видна стерильная зона, с нерезко очерченной границей. Между нормальным ростом и стерильным пятном наблюдается хорошо различающаяся макроскопически промежуточная зона, колонии которой под микроскопом выглядят слабо развитыми, более мелкими, чем колонии, не подвергшиеся действию исследуемого препарата. Увеличение диаметра стерильного пятна отчетливо обнаружить нам не удалось, но все же в некоторых случаях незначительное его расширение имело место. Вторичного роста культуры на стерильном пятне не наблюдалось.

Результаты этих опытов показали, что испытуемый препарат обладает бактерицидным и бактериостатическим действием по отношению к холерному вибриону.

Дальнейшее изучение заключалось в определении количественной активности взятого в опыт антибиотика.

Для исследования была проведена титрация биомицина на жидкой питательной среде. В пробирках с бульоном готовились растворы с различной концентрацией антибиотика (в единицах на 1 мл среды), начиная с 100 единиц и кончая 0,39 единицы.

Известно, что в зависимости от видов микробов различные антибиотики по-разному проявляют свое бактериостатическое и бактерицидное действие. Для определения титра активности испытуемого препарата в пробирки с растворами биомицина добавлялась взвесь односуточной агаровой культуры холерного вибриона (штаммы 11, 140, 143, 1488) разной концентрации: 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,62; 7,81 млн., а штамм 16 — в концентрации 50; 25; 12,5; 6,25; 3,12; 1,56; 0,78 млн. микробов.

Одновременно были сделаны контрольные посеvy культуры.

Посевы микробной взвеси помещались в термостат при температуре 37°. В течение 7 суток отмечались результаты посева микробной эмульсии.

Из опытных и контрольных пробирок ежедневно производились контрольные высевы на чашки с агаром.

Результаты наших опытов говорят о несомненной чувствительности холерного вибриона к действию биомицина. Из этих опытов выяснилось, что испытуемый нами антибиотик обладает бактерицидными и бактериостатическими способностями по отношению к холерному вибриону. Следует отметить, что биомицин в более высоких концентрациях проявляет бактерицидное действие (100 единиц препарата убивает микробную взвесь в 250 и 125 млн. микробов), в более слабых концентрациях проявляет бактериостатическое действие, заметно задерживая рост в опытных пробирках по сравнению с контрольными.

Получив положительные результаты бактерицидного и бактериостатического действия биомицина на жидкой питательной среде, мы повторили свой опыт, применив плотную среду.

Были сделаны посеvy на агаровые пластинки всех 5 вышеуказанных штаммов холерного вибриона из 1-миллиардной эмульсии. Затем чашки с посевами помещались в термостат при 37°C. На суточный рост культуры наносился биомицин в дозе 1000 и

10000 единиц в виде дорожки, и посев вновь помещался в термостат при той же температуре на 1 сутки; при этом интересно отметить, что при нанесении биомицина на односуточный рост на чашках с агаром колонии холерного вибриона становятся более светлыми. При просмотре чашек через 24 часа можно видеть стерильную дорожку, границы которой с нормальным ростом культуры не резко обрываются, т. е. имеется промежуточная зона, колонии которой лизированы. В последующие дни расширения дорожки нами не наблюдалось. Таким образом, результаты этого опыта еще раз подтверждают данные, полученные нами на бульоне.

Следующим этапом в нашей работе было изучение профилактического и лечебного действия биомицина при холерной инфекции белых мышей.

Литературные данные свидетельствуют о том, что биомицин обладает широким спектром действия, включающим и группу кишечных инфекций. Наши опыты *in vitro* показали высокую чувствительность лабораторных штаммов холерного вибриона к этому антибиотику.

Экспериментальное изучение холерной инфекции испытывает известные трудности в получении постоянной, типично протекающей инфекции у лабораторных животных. В связи с отсутствием подходящих для опыта экспериментальных моделей, нами для проверки испытуемого препарата были использованы белые мыши.

Течение этой инфекции у мышей не дает нам права рассматривать ее как настоящую инфекцию, так как она лишена специфичности. Но тем не менее, при введении указанным животным высокой дозы микробной культуры холерного вибриона развивается септицемия с явлениями резко выраженной интоксикации.

Для испытания профилактического действия биомицина при двукратном его применении нами было использовано 49 белых мышей, которые были разбиты на 2 группы.

Первая группа (40 мышей) получала до заражения биомицин в виде сухого порошка двукратно; за 6 часов 5000 единиц и за 3 часа 10000 единиц. Таким образом, каждая мышь суммарно получила 15000 единиц. Вторая группа (9 мышей) служила контролем в опыте.

Для контрольного заражения был взят вирулентный штамм *v. cholerae-16*, минимальная смертельная доза которого равнялась 500 млн. микробов. Летальная доза указанного штамма определялась путем титрования на белых мышах. Заражение животных производилось внутрибрюшинно 2 Dcl (1 млрд. микробов).

Подопытные животные выдерживались в течение 5 суток, после чего выжившие мыши умерщвлялись и подвергались вскрытию с последующим бактериологическим исследованием.

Результаты данного опыта приводятся в табл. 1.

Как видно из таблицы, двукратное применение биомицина *per os* в суммарной дозе 15000 единиц предохраняет от гибели 67,5% мышей при 100% гибели контрольных животных, что указывает на выраженное профилактическое действие указанного препарата при экспериментальной холере.

Далее нас интересовал вопрос о лечебном действии препарата при экспериментальной холерной инфекции.

Таблица 1

## Профилактическое действие биомидина

Количество животных	Чем заражено и доза за культуры	Время введения препарата и его доза в единице		Гибель животных по дням					Количество выживших животных	Выживаемость животных в процентах
		за 6 часов до заражения	за 3 часа до заражения	1	2	3	4	5		
40	V. cholerae 2 Dcl	5000	10 000	3	8	1	—	1	27	67,5
9	" "	Контроль (препарат не вводился)		2	6	1	—	—	—	—

С этой целью был поставлен небольшой опыт по проверке лечебного действия биомидина на 50 белых мышах, которые также были заражены 2 Dcl вирулентной культуры холерного вибриона. 40 мышей получили биомидин per os одновременно с заражением 5000 единиц, затем, спустя 3 часа с момента заражения, 10 000 единиц. Остальные 10 мышей служили контролем в опыте.

Результаты, полученные в этом опыте, представлены в табл. 2.

Таблица 2

## Профилактическое действие биомидина

Количество животных	Чем заражено и доза за культуры	Время введения препарата и его доза		Гибель животных по дням					Количество выживших животных	Выживаемость животных в процентах
		одновременно с заражением	спустя 3 часа после заражения	1	2	3	4	5		
40	V. cholerae 2. Dcl	5000	10 000	13	10	6	2	1	8	20
10	" "	Контроль (препарат не вводился)		7	3	—	—	—	—	—

Как видно из таблицы, при двукратном применении биомидина с лечебной целью (15 000 единиц) выживаемость подопытных животных достигает всего лишь 20%, при 100% гибели контрольных животных. Эти данные указывают, что биомидин при сравнительно хорошем профилактическом действии обладает малым лечебным эффектом. О некотором лечебном действии препарата указывает удлинение срока гибели подопытных животных.

## ВЫВОДЫ

1. Биомидин по отношению к холерному вибриону *in vitro* обладает бактерицидными и бактериостатическими свойствами. Бактерицидное действие биомидина проявляется в высоких концентрациях препарата (100—125 ед./мл). В малых концентрациях



(1,56—0,78 ед./мл) биомицин обладает бактериостатическим действием, заметно задерживая, по сравнению с контрольным посевом, рост микробов.

2. Биомицин, примененный с профилактической целью двукратно в суммарной дозе 15 000 единиц, предохраняет мышей от гибели в 67,5% при 100% гибели контрольных животных.

3. Прием биомицина с лечебной целью двукратно в суммарной дозе 15 000 единиц предохраняет от гибели 20% мышей при 100% гибели контрольных животных.

Настоящая работа является предварительным сообщением, основанным на части материала наших исследований.

Л. Е. Хунданов, М. И. Безрукова,  
Ф. С. Азаргинова

### ИЗУЧЕНИЕ КОМБИНИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ СТРЕПТОМИЦИНА И ИММУННОЙ СЫВОРОТКИ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНУЮ ХОЛЕРНУЮ ИНФЕКЦИЮ

Несмотря на то, что холера известна человечеству с давних времен, несмотря на достижения науки в области иммунологии и микробиологии вопрос о специфическом лечении и пассивной профилактике холеры все еще остается неразрешенным. Одним из лучших лечебных средств при холере до сего времени считается холерный бактериофаг, который был предложен еще в начале нашего столетия. Первые опыты по лечению фагом холерных больных дали ободряющие результаты. Дальнейшие же исследования по изучению действия фага дали разноречивые результаты.

Значительно больше было сделано попыток лечения холеры специфической противохолерной сывороткой. Так как в клинической картине заболевания холерой преобладают явления интоксикации, естественно нужно было искать возможность лечения этого заболевания антитоксической сывороткой. Однако методы получения сывороток, применяемые при изготовлении антитоксических сывороток, оказались непригодными для получения противохолерной сыворотки.

В последние годы (1945—1946 гг.) советскими учеными — Е. И. Коробковой и Г. Ф. Гаузе были испытаны действия стрептомицина и стрептотрицина на чумный микроб и холерный вибрион.

Эти авторы своими исследованиями установили, что стрептомицин и стрептотрицин, в зависимости от концентрации, оказывают бактерицидное, бактериолитическое и бактериостатическое действие на чумный микроб и холерный вибрион. В результате сравнительного изучения этих препаратов, авторы установили, что наиболее активным, в смысле быстроты действия, является стрептотрицин.

Рейман, применяя стрептомицин для лечения холерных больных, не выявил особой эффективности его по сравнению с другими методами лечения холеры. Самой грозной особенностью холеры автор считает не токсическое действие холерных вибрионов на организм, а обезвоживание его и потерю минеральных солей, на что и рекомендует обратить особое внимание. По данным же автора стрептомицин, примененный с клизмой или парэнтерально, обуславливает уменьшение количества вибрионов в кале и небольшое сокращение периода болезни. Следовательно, вопрос о химиотера-

нии холеры также остается неразрешенным. В связи с этим настоящая работа ставит целью изучение возможности применения стрептомицина в сочетании с иммунной сывороткой для лечения экспериментальной холеры. Одновременно нами проверялось действие стрептомицина без сыворотки и сыворотки без стрептомицина.

Изучение действия указанных препаратов на холерную инфекцию проводилось за неимением экспериментальной модели на белых мышах.

Экспериментальные исследования нами были проведены по изучению профилактического, антиинфекционного и лечебного действия стрептомицина и иммунной сыворотки. Последняя была получена от лошадей-продуцентов, иммунизированных холерным поливалентным «ОН» антигеном.<sup>1</sup>

Исследуемые препараты вводились животным внутривентрально и подкожно. При комбинированном применении двух разных препаратов стрептомицин растворялся в сыворотке и вводился вместе с нею; при раздельном их изучении стрептомицин растворялся в физиологическом растворе. Доза стрептомицина равнялась 500 ед.; доза сыворотки — 0,5 мл.

Для контрольного заражения нами был выбран вирулентный штамм (№ 16), который перед опытом пассировался через организм морских свинок. Летальная доза нашего штамма, посредством которого испытывалась эффективность препаратов, равнялась 500 млн. микробов. Эта доза определялась путем титрования на белых мышах.

Заражение животных производилось внутривентрально дозой 750 млн. микробов, что соответствует 1,5 Dcl.

### 1. Профилактическое действие препаратов

В первом опыте мы испытывали профилактическое действие стрептомицина и иммунной сыворотки. Для этого испытываемые препараты вводились животным за 3 часа до заражения. Результаты этого опыта приводятся в табл. 1.

Из таблицы видно, что стрептомицин при однократном его введении белым мышам за 3 часа до заражения не обладает профилактическим действием (90—100% гибели животных). Это следует объяснить не только слабым профилактическим действием самого препарата, но и быстрым выведением его из организма до того, как наступает генерализация инфекции и токсинемия. В противоположность стрептомицину иммунная сыворотка при тех же условиях опыта обладает ясно выраженным профилактическим действием, предохраняя 90—100% животных от холерной инфекции. Профилактический эффект сыворотки также отчетливо проявляется при совместном применении ее со стрептомицином, где выживаемость животных достигает 80—90%. Следовательно, нужно полагать, что стрептомицин не оказывает отрицательного влияния на активность действия иммунной сыворотки. Последняя, в смысле

<sup>1</sup> Подробная методика получения противохолерной сыворотки описана в работе Хунданова, Азаргиновой и Лебедевой, помещенной в XI томе Известий Иркутского гос. противочумного института, 1953.

Таблица 1

## Профилактическое действие стрептомицина и иммунной сыворотки

Название испытуемых препаратов	Доза применяемых препаратов	Доза заражения	Метод введения препаратов	Количество белых мышей			Средняя продолжительность жизни павших мышей в днях
				все-го	па-ло	вы-жи-ло	
Стрептомицин	500 ед	1,5 Dci	внутрибрюшинно	10	9	1	1,9
			подкожно	10	10	—	1,2
Противохолерная сыворотка	0,5 мл.	" "	внутрибрюшинно	10	—	10	—
			подкожно	10	1	9	4
Противохолерная сыворотка + стрептомицин	0,5 мл. + 500ед.	" "	внутрибрюшинно	10	1	9	10
			подкожно	10	2	8	1
Контроль (без введения препаратов)	—	" "	внутрибрюшинно	10	8	2	1,8

профилактического эффекта и быстроты создания пассивного иммунитета, является более эффективным средством, чем другие биологические и химиотерапевтические препараты.

## II. Антиинфекционное действие препаратов

Для определения антиинфекционного действия препаратов, последние вводились животным одновременно с заражением их вирулентной культурой *v. cholerae*. Материалы данного опыта приводятся в табл. 2.

Из данных таблицы видно, что наибольший антиинфекционный эффект наступает при применении стрептомицина, где выживаемость животных достигает 70—100%. По силе антиинфекционного действия иммунная сыворотка, несмотря на ее высокие превентивные свойства, заметно уступает стрептомицину (40—100% выживаемости животных), но зато ее сравнительно слабый антиинфекционный эффект компенсируется за счет стрептомицина при комбинированном применении их вместе. За антиинфекционное действие изучаемых препаратов говорит еще и тот факт, что у всех животных, оставшихся в живых после их 15-дневного выдерживания, ни в одном случае не удается выделить у них культуру, что указывает на полную стерилизацию организма у экспериментальных животных от холерной инфекции.

## III. Лечебное действие препаратов

Для определения лечебного эффекта препаратов последние вводились животным через различные сроки после их заражения (через 1, 3 и 6 часов).

Антиинфекционное действие препаратов

Название испытуемых препаратов	Доза применяемых препаратов	Доза заражения	Метод введения препаратов	Количество белых мышей			Средняя продолжительность жизни павших мышей в днях
				всего	пало	выжило	
Стрептомицин . . . . .	500 ед.	1,5 DcI	внутрибрюшинно	10	3	7	10
Противохолерная сыворотка . . . . .	0,5 мл	"	подкожно	10	—	10	—
Противохолерная сыворотка + стрептомицин . . . . .	0,5 мл + 500 ед.	"	внутрибрюшинно	10	6	4	1,5
Контроль (без введения препаратов) . . . . .	"	"	внутрибрюшинно	10	2	8	8,5
			подкожно	10	2	8	7,5
			внутрибрюшинно	10	8	2	1

Таблица 3

## Лечебное действие препаратов при однократном их применении

Название испытуемых препаратов	Доза приемных препаратов	Доза заражения	Время введения препарата	Метод введения препаратов	Количество белых мышей			Средняя продолжительность жизни павших мышей в днях
					всего	пало	выжило	
Стрептомицин	500 ед.	1,5 Dcl	через 1 час	внутрибрюшинно	10	—	10	—
			через 3 часа	подкожно	10	2	8	5,5
			через 6 часов	внутрибрюшинно	10	5	5	3
Противохолерная сывортка	0,5 мл	"	через 1 час	подкожно	10	8	2	3,2
			через 3 часа	внутрибрюшинно	10	7	3	2
			через 6 часов	подкожно	10	9	1	2
Противохолерная сывортка + стрептомицин	0,5 мл + 500 ед.	"	через 1 час	внутрибрюшинно	10	4	6	5
			через 3 часа	подкожно	10	5	5	2,5
			через 6 часов	внутрибрюшинно	10	9	1	1,5
Контроль (без введения препаратов)	—	"	через 1 час	подкожно	10	9	1	2,5
			через 3 часа	внутрибрюшинно	10	5	5	2
			через 6 часов	подкожно	10	9	1	2
Контроль (без введения препаратов)	—	"	через 1 час	внутрибрюшинно	10	3	7	7,6
			через 3 часа	подкожно	10	—	10	—
			через 6 часов	внутрибрюшинно	10	7	3	4
Контроль (без введения препаратов)	—	"	через 1 час	подкожно	10	7	3	2
			через 3 часа	внутрибрюшинно	10	8	2	1,3
			через 6 часов	подкожно	10	9	1	1,5
Контроль (без введения препаратов)	—	"	—	внутрибрюшинно	10	10	—	1

Данные этих опытов приводятся в табл. 3. Как показывает табл. 3, однократное введение стрептомицина через час после заражения предохраняет 80—100% животных от гибели, через 3 часа — 20—50% и через 6 часов — 10—30%. Противохолерная иммунная сыворотка, введенная через час после заражения, предохраняет 50—60% животных, через 3 часа — 10% и через 6 часов — 10—50%.

Сыворотка со стрептомицином, введенные в комбинации через час после заражения, предохраняют 70—100% животных, через 3 часа — 30% и через 6 часов — 10—20%.

Таким образом, наилучший эффект был получен при лечении, начатом через час после заражения как стрептомицином, так и противохолерной сывороткой, где выживаемость животных достигала 50—100%. Лечение через 3—6 часов после заражения дало выживаемость в пределах 10—60%. Из 10 контрольных животных 9 пало в сроки от 8 до 24 часов и 1 — после 48 часов. У всех контрольных павших животных выделены культуры холерного вибриона. От животных, защищенных стрептомицином и сывороткой, через 15 дней не удалось выделить специфическую культуру.

Полученные нами данные указывают, что стрептомицин и иммунная сыворотка при однократном введении белым мышам не только купируют холерную инфекцию, но и предохраняют значительный процент животных от гибели. По силе лечебного действия стрептомицин превосходит иммунную сыворотку, но лечебный эффект последней может быть усилен за счет введения в лечение стрептомицина.

#### ВЫВОДЫ

1. Однократное введение стрептомицина с профилактической целью за 3 часа до заражения не предохраняет белых мышей от холерной инфекции.

2. Стрептомицин, введенный белым мышам одновременно с 1,5 Dcl холерных вибрионов, предохраняет 70—100% мышей от заболевания холерой.

3. Однократное введение стрептомицина белым мышам через 1 час после заражения излечивало их в 80—100%, через 3 часа — в 20—50% и через 6 часов — в 10—30% случаев.

4. Однократное введение противохолерной лошадиной сыворотки с профилактической целью за 3 часа до заражения предохраняет 90—100% белых мышей.

5. Иммунная сыворотка, введенная белым мышам одновременно с 1,5 смертельной дозы холерных вибрионов, предохраняет 40—100% мышей от заболевания холерой.

6. Однократное введение иммунной сыворотки белым мышам через час после заражения излечивало их в 50—60%; через 3 часа — 10% и через 6 часов — 10—50%.

7. Комбинированное применение иммунной сыворотки со стрептомицином повышает эффект лечения холеры сывороткой.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Коробкова Е. И. и Гаузе Г. Ф. Действие стрептотрицина на чумной микроб и холерный вибрион. ЖМЭИ, 1946, № 7.
2. Коробкова Е. И. Микробиология и эпидемиология холеры. Медгиз, 1947.
3. Кашкин П. Н. Антибиотики и их практическое использование. Медгиз, 1952.
4. Ковалева Н. И. Изучение комбинированного действия стрептомицина и иммунной сыворотки на брюшнотифозную инфекцию мышей. Вопросы химиотерапии бактериальных инфекций. АМН СССР, 1950.
5. Мечников И. И. Кишечная холера и серотерапия. Вопросы иммунитета. АН СССР, 1951.
6. Ермольева З. В. Холера. Медгиз, 1942.
7. Хунданов Л. Е., Азаргинова Ф. С. и Лебедева Л. Т. Опыт получения противохолерной сыворотки и изучение ее эффективности. Известия Иркутского гос. противочумного института, т. XI, 1953.



Р. Г. Медведева, Э. И. Клец

## О ФИТОНЦИДНЫХ СВОЙСТВАХ СИБИРСКИХ РОДОДЕНДРОНОВ

Проблема фитонцидов, выдвинутая Б. П. Токиным, как в биологическом отношении, так и по ее значимости для практической медицины, продолжает оставаться весьма актуальной. Являясь по своей природе веществами, способствующими осуществлению естественного иммунитета высших растений, многие из фитонцидов оказались эффективными средствами в борьбе с различными инфекциями, в частности с желудочно-кишечными.

В этой связи сибирские рододендроны, издавна применяемые в народной медицине при желудочно-кишечных и других заболеваниях, представляют несомненный интерес в качестве объектов исследования.

Обнаруженная предварительными исследованиями антимикробная активность вытяжек из сибирских рододендронов<sup>1</sup> послужила также предпосылкой для дальнейшего комплексного изучения фитонцидных свойств этих растений.

В настоящем сообщении приводятся данные, полученные при исследовании фитонцидной активности рододендрона даурского, рододендрона мелколистного и рододендрона душистого.

Рододендрон даурский (*Rhododendron dahuricum* L.), широко известный в Сибири под названием «сибирский багульник», издавна применяется в народной медицине при ревматизме, желудочных и других заболеваниях. Листья («да-ли-маг-бо») и цветы («да-ли-муг-бо») этого растения — средства тибетской медицины (Гаммерман, 1940).

Имеются указания на протистоцидную активность тканевого сока листьев и свежих корней рододендрона даурского (Натансон и Узденникова, 1948—1949). По данным А. Ф. Гаммерман, листья содержат дубильные вещества — нарбутин. Прохорова и Лебедев нашли в листьях и молодых побегах 0,05—0,1% эфирного масла. Авторами установлены физико-химические константы эфирного масла. Листья содержат также эриколин; в свежих листьях найдено 0,44% витамина С.

Анатомическое исследование растения, проведенное под нашим руководством, и выявленные при этом диагностические признаки

<sup>1</sup> Р. Г. Медведева. Опыт изучения антимикробных свойств рододендронов Сибири. Доклад в Научном фармацевтическом обществе Иркутска 6 декабря 1949 г.

дают возможность установить подлинность сырья в целом и измельченном виде (Шергин, 1950).

Материалом для исследования фитонцидной активности и для фитохимического анализа служили листья. Сбор проводился в начале июля (после цветения) 1948 г. в лесу поблизости от Иркутска.

В исходном сырье нами определено количество дубильных веществ — 5,5% и арбутина — 3% (на воздушно-сухой материал)<sup>1</sup>, качественными реакциями подтверждено наличие эфирного масла, а также установлена природа дубильных веществ; последние относятся к пирокатехиновой группе (Прохорова и Лебедев, 1932; Вошилов, 1941).

Исследования по определению фитонцидной активности растений проводились с водными и спиртоводными извлечениями из воздушно-сухих листьев. Водные препараты готовились из расчета 1 часть сырья на 10 частей воды по методу, принятому фармакопеей VIII для приготовления настоев. Спиртоводные вытяжки готовились на 40° спирту методом мацерации (Государст. фармакопея, 1946).

40° спирт был использован нами как наиболее эффективный извлекатель дубильных веществ (Бабич и Медведева, 1946). Вместе с тем нас интересовала фитонцидная активность таких вытяжек, поскольку в народной медицине наряду с водными отварами используются настойки на водке. Менее концентрированные препараты — 8 и 5% получены путем разбавления дистиллированной водой полученных ранее извлечений.

Из спиртоводных вытяжек, предназначенных для испытания их антибактериального действия, спирт полностью удалялся выпариванием на водяной бане и к остатку добавлялась вода до первоначального объема. Одновременно с испытанием бактерицидных свойств во всех препаратах проводилось количественное определение дубильных веществ. Опыты по испытанию бактерицидности, как правило, ставились через сутки после изготовления препаратов; последние до постановки опытов сохранялись при комнатной температуре в стерильном флаконе или пробирке.

Испытание фитонцидных свойств препаратов было проведено в отношении нескольких групп микробов, а именно: группы кишечнотифозной, дизентерийной и группы гноеродных микробов (золотисто-желтого стафилококка и гемолитического стрептококка). Затем большое количество опытов было поставлено по испытанию бактерицидных свойств препаратов в отношении микробов-возбудителей особоопасных инфекций — чумного микроба, туляремийного микроба, бруцеллезных бактерий и холерного вибриона. Кроме того, бактерицидность препаратов была испытана также в отношении дифтерийной палочки, и протей X-19.

До постановки опытов приготовленные препараты подвергались бактериологическому исследованию с целью исключить случайное присутствие взятых в опыт микробов. Исследования всегда давали отрицательный результат: в извлечениях ни разу не были обнаружены представители изучаемой флоры.

<sup>1</sup> Количественное определение дубильных веществ в сырье и извлечениях проводилось по методу Левенталя, видоизмененному институтом биохимии Академии наук СССР (Курсанов, 1941), арбутина — по методу Нечера в модификации Беленицкой (Беленицкая, 1938).

При исследовании бактерицидных свойств препаратов мы пользовались следующей методикой. К 0,5 мл препарата добавляли 100 млн. микробов (взвес в физиологическом растворе поваренной соли микробов с суточной агаровой культуры). Из этой смеси производили высеv по 0,1 мл на пластинку агара через определенные промежутки времени: 2, 5, 25 и 48 часов.

Таким путем засеваемое количество микробов (20 млн.) позволяло ожидать сплошного роста на пластинке агара в случае отсутствия антимикробного действия препарата. Учет результатов роста производили после суточного выдерживания посевов в термостате при 37°, а в некоторых опытах учитывались дополнительно результаты двухсуточного выращивания.

Для работы со стрептококком пользовались виноградносахарным агаром, для дифтерийной палочки — свернутой кровяной сывороткой и сывороточным агаром, для кишечнo-тифозной группы и дизентерийных бактерий — агаром Эндо.

При работе с возбудителями особоопасных инфекций пользовались соответствующими для каждого из них средами. Выращивание чумного микроба проводилось в течение двух суток при 28°. Засеваемое количество микробов учитывалось только при посевах холерного вибриона.

В проведенных раньше (1949 г.) повторных предварительных опытах было испытано антимикробное действие водных вытяжек (1 : 10) из листьев рододендрона даурского. При этом испытанию подверглись свежеприготовленные вытяжки. Сразу после приготовления водной вытяжки или не позже чем через 30 минут эмульгировали в ней определенное количество изучаемых микробов, и путем последующего высева проверялась эффективность действия препарата. Как видно из представленной ниже табл. 1, лучший результат в смысле бактерицидного действия дали вытяжки из листьев, полученные горячим настаиванием; вытяжки, приготовленные холодным настаиванием оказались инактивными.

Т а б л и ц а 1

Результаты предварительных опытов по исследованию антимикробных свойств водных вытяжек из листьев рододендрона даурского

Название микроба	Способ приготовления	
	горячее настаивание	холодное настаивание
Брюшнотифозная палочка . . . . .	—	+
Дизентерийная палочка . . . . .	—	+
Стафилококк золотисто-желтый . . . . .	+	+
Стрептококк . . . . .	—	+
Дифтерийная палочка . . . . .	—	+

В табл. 2 представлены результаты опытов по испытанию бактерицидных свойств спиртоводной вытяжки (10% концентрация извлечения) в отношении возбудителей особоопасных инфекций.

Таблица 2

Антимикробные свойства спиртоводных вытяжек  
(концентрация извлечения 10%) из листьев рододендрона  
даурского

Название микроба	Экспозиция (в часах)		
	2	5	24
Чумный микроб—штамм 92 . . . . .	+	+	—
” ” ” EV 229 . . . . .	+	—	—
” ” ” 17 . . . . .	3 колонии	—	—
Туляремийный микроб—штамм 430 . . . . .	+	+	—
” ” ” 15 бул. 17 . . . . .	+	+	—
<i>Brucella melitensis</i> штамм 1 . . . . .	+	+	+
<i>Brucella abortus bovis</i> . 11 . . . . .	+	+	+
Холерный вибрион—штаммы 11, 16, 140 . . . . .	—	—	—

Условные обозначения: + рост имеется; — отсутствие роста.

Как видно из полученных результатов, бруцеллы не погибали даже после 24-часового воздействия препарата; чумный микроб погибал после 5- или после 24-часовой экспозиции. Наибольшее губительное действие препарата выявлено в отношении холерного вибриона — уже после 2-часовой экспозиции роста вибриона получить не удавалось.

В табл. 3 представлены сводные результаты 12 повторных опытов, проведенных в 1950 году по испытанию бактерицидных свойств спиртоводных вытяжек различной крепости в отношении следующих микробов: дизентерийной палочки Флекснера, брюшнотифозного, паратифозного А и Б микроба, кишечной палочки, протей *X*<sub>19</sub>, стафилококка, стрептококка и дифтерийной палочки.

Как видно из приведенных данных, антимикробные свойства спиртоводных вытяжек из листьев обнаруживаются уже после двухчасового воздействия препарата на микробную эмульсию. После пятичасовой экспозиции из испытуемой эмульсии вырастают в большинстве случаев единичные колонии, а двадцатичетырехчасовое воздействие препарата полностью губит микробов, взятых для испытания. Особенную бактерицидность проявляет 10%, а также 8% спиртоводная вытяжка.

Водные вытяжки из листьев 5%, 8%, а также 10% оказались в этих случаях малоактивными и не только не вызывали гибели микробов, но не снижали, сколько-нибудь заметным образом, интенсивности их роста даже после суточной экспозиции. Бактерицидная способность выявилась только у 10% водной вытяжки в отношении стафилококка, который не обнаруживал роста после двадцатичетырехчасовой экспозиции.

Снижение активности водных извлечений в данных опытах по сравнению с предварительными (1949) можно объяснить тем, что в первых исследованиях испытывались свежеприготовленные препараты, в то время, как в последующих (1950 г.) вытяжки подвергались исследованию лишь через 24 часа после их приготовления.

Антимикробные свойства спиртоводных вытяжек из листьев рододендрона даурского

Концентрация извлечения (отношение сырья к готовой вытяжке)	5%			8%			10%					
	2	5	24	48	2	5	24	48	2	5	24	48
Название микроба												
Экспозиция (в часах)												
Дизентерийная палочка Флекснера	+	—	—	—	+++	1 к	1 к	—	28 к	—	—	—
Брюшготифозная палочка	+	11 к	1 к	—	+	28 к	—	—	7 к	—	—	—
Парагифозная А палочка	++	+	—	—	+	3 к	—	—	+	—	—	—
Парагифозная В палочка	++++	++++	18 к	—	++++	15 к	—	—	++++	—	—	—
Кишечная палочка	++++	++++	+	1 к	++++	+	—	—	++++	+	4 к	1 к
Протей Х <sub>19</sub>	14 к	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
Стафилококк золотисто-желтый	+	1 к	—	—	39 к	1 к	—	—	25 к	—	—	—
Стрептококк												
Дифтерийная палочка												
Количество дубильных веществ в препарате			0,31 %			0,51 %					0,64 %	

Условные обозначения:

++++ сплошной рост; +++ обильный рост; ++ хороший рост; + скудный рост;

— отсутствие роста; к — колонии.

Вместе с тем следует подчеркнуть, что длительность хранения исходного сырья не отразилась на фитонцидной активности вытяжек. Так, опыты, поставленные в июне 1950 г., дали те же результаты, что и опыты, проведенные повторно в одинаковых условиях в апреле 1951 года. При этом исходным сырьем для изготовления вытяжек во всех опытах служил материал, заготовленный в июле 1948 года.

Сопоставляя результаты действия водных и спиртоводных вытяжек, можно отметить, что последние значительно активнее водных как по диапазону охвата микробной флоры, так и по силе бактерицидного эффекта. Вряд ли этот эффект можно отнести за счет более высокой концентрации дубильных веществ в спиртоводных препаратах. Если сопоставить результаты действия водного и спиртоводного извлечений, близких по количественному содержанию дубильных веществ, а именно: 10% водного (0,25% дубильных веществ) с 5% спиртоводной вытяжкой (0,31% дубильных веществ), то едва ли можно установить такую зависимость. Разница в концентрации дубильных веществ составляет всего лишь 0,06%, а между тем спиртоводный препарат несравненно активнее водного. Последний, как уже было указано, оказал бактерицидное действие только в отношении стафилококка после суточной экспозиции.

Не столь значительна разница в концентрации дубильных веществ и в различных спиртоводных вытяжках — она колеблется в пределах десятых долей процента. Так, 10% препарат содержит дубильных веществ на 0,13 больше, чем 8% спиртоводная вытяжка, а антибактериальная активность первого при 2-часовой экспозиции значительно выше бактерицидности второго; при более длительной выдержке разница в действии сглаживается.

Приведенные данные с учетом того, что одним из компонентов рододендрона даурского является эфирное масло, практически нерастворимое в воде, но хорошо растворяющееся в спирте, позволяют сделать вывод о том, что более высокая антибактериальная активность спиртоводных препаратов по сравнению с водными, зависит от компонентов, извлекаемых спиртом, но не извлекаемых водой.

Рододендрон мелколистный (*Rhododendron parvifolium* Adams), внешне напоминающий рододендрон даурский, по данным Е. Буш (Буш, 1915) занимает второе за кашкарой место по распространенности в Сибири.

Материалом для работы послужили растения, собранные на болоте близ берега Байкала в районе между Култуком и Слюдянской. Сбор проведен в последних числах июня 1947 года в конце цветения.

Сведений о химическом составе растения, за исключением ранее нами же опубликованных (Медведева, 1950), мы в литературе не нашли. В результате проведенного нами анатомического исследования рододендрона мелколистного выявлены специфические видовые структурные особенности этого растения, позволяющие диагностировать сырье.

Этот вид рододендрона привлек наше внимание вследствие наличия в листьях значительного количества дубильных веществ (количество их не меньше, чем в кашкаре), а также содержания

арбутина и эфирного масла. Последнее обуславливает слабый приятный запах листьев.

Будучи менее популярным в народной медицине, чем кашкара (Медведева, 1952) и сибирский багульник, растение это тем не менее с успехом применяется населением некоторых мест Прибайкалья в виде отваров и настоек на водке из листьев при поносах и как мочегонное средство.

Как показали неоднократно повторенные в 1949 году опыты, свежеприготовленные 10% водные вытяжки из листьев рододендрона мелколистного, полученные горячим настаиванием, оказались довольно активными в отношении ряда микробов, в то время как извлечения, приготовленные настаиванием (18 часов) при комнатной температуре, проявили свою активность только в отношении возбудителя брюшного тифа.

Результаты предварительного испытания фитонцидных свойств рододендрона мелколистного приведены в табл. 4.

Т а б л и ц а 4

Бактерицидное действие свежеприготовленных водных вытяжек

Название микроба	Способ приготовления	
	горячее настаивание	холодное настаивание
Брюшнотифозная палочка . . . . .	—	—
Дизентерийная „ . . . . .	— (+)	+
Стафилококк золотисто-желтый . . . . .	—	+
Стрептококк . . . . .	—	+
Дифтерийная палочка . . . . .	—	+

Условные обозначения: + рост; — роста нет;  
— (+) в отдельных опытах рост есть.

Полученные результаты побудили нас продолжить изучение фитонцидных свойств данного сибирского вида рододендрона.

Исходным сырьем для всех дальнейших опытов по определению фитонцидной активности служили воздушно-сухие листья сбора июня 1947 года.

В листьях было найдено 14,2% дубильных веществ и 4% арбутина (на воздушно-сухой материал). Количественное определение дубильных веществ и арбутина проводилось по указанным раньше методикам. Наличие эфирного масла установлено путем качественных реакций.

Для дальнейшего изучения фитонцидных свойств рододендрона мелколистного были использованы водные и спиртоводные вытяжки, приготовленные на 40° спирте. Препараты готовились фармакопейными методами из расчета 1 часть сырья на 10 частей растворителя.

Из спиртоводных вытяжек, во избежание побочного действия на микробов, спирт полностью выпаривался на водяной бане и к вытяжке добавлялась дистиллированная вода до первоначального объема. Часть каждого из извлечений оставлялась для количествен-

ного определения дубильных веществ, которое проводилось одновременно с постановкой опытов по исследованию фитонцидной активности препаратов.

Дальнейшее изучение фитонцидных свойств рододендрона мелколистного проведено по той же методике и в отношении тех же видов микробов, как и испытание антимикробного действия сибирского багульника.

Водные растворы различной крепости — 5, 8 и 10%, испытанные через сутки после их изготовления, в общем оказались сходными по своему действию и не вызывали гибели микробов, даже после 24-часового воздействия на них. Некоторое исключение составил протей X<sub>19</sub>, который после 24-часовой экспозиции значительно угнетался в своем росте 8% вытяжкой и погибал от 10% извлечения; еще большую чувствительность проявил стафилококк — последний был угнетаем в своем росте уже после 5-часовой экспозиции в 8% вытяжке, а при более длительном воздействии — погибал от 5% вытяжки.

Для наглядности приводим сводную таблицу 5.

Т а б л и ц а 5

Результаты испытания антимикробного действия 10% водной вытяжки из листьев рододендрона мелколистного

Экспозиция (в часах)	2	5	24
Название микроба			
Дизентерийная, брюшнотифозная, паратифозные А и В бактерии, кишечная палочка . . . . .	++++	++++	++++
Протей X <sub>19</sub> . . . . .	++++	+++	—
Стафилококк золотисто-желтый . . . . .	++++	+	—
Количественное содержание дубильных веществ в вытяжке	0,45%		

Условные обозначения: ++++ сплошной рост; +++ обильный рост; + скудный рост; — отсутствие роста.

Спиртоводные извлечения обладали заметно выраженной фитонцидной активностью — угнетали рост большинства видов испытанных микробов даже после кратковременного воздействия или вызывали их гибель после более продолжительной экспозиции.

Результаты испытания фитонцидных свойств спиртоводных вытяжек из листьев представлены на табл. 6.

Как видно из представленной таблицы, наиболее активное действие вытяжек выявилось в отношении дифтерийной палочки, стрептококка и стафилококка. Несколько устойчивее оказались к этим препаратам кишечная палочка, паратифозные А и В бактерии и протей X<sub>19</sub>, но и они погибали после 24-часовой экспозиции как от 10%, так и от 8% и 5% вытяжек. Брюшнотифозные и дизентерийные микробы погибали уже после 5-часовой экспозиции в 5%, т. е. в наиболее слабой из испытанных вытяжек.

Следует также отметить, что результаты, полученные после двухсуточного выращивания взятых в опыт микробов, оказались такими же, как и после суточного.



Таблица 6  
Эффективность антимикробного действия спиртоводных вытяжек из листьев рододендрона мелколистного

Дата постановки опыта	15/VI-1950 г.						18/VI-1951 г.					
	5%		8%		10%		5%		10%		10%	
	2	5	24	2	5	24	2	5	24	2	5	24
Концентрация извлечения (отношение сырья к готовой вытяжке)												
Название микроба	Экспозиция (в часах)											
Дизентерийная палочка Флекнера . . . . .	+	—	—	—	—	—	2 кол	—	—	++	—	—
Брюшготифозная палочка . . . . .	10 к	—	—	—	—	—	—	—	—	++	—	—
Паратифозная А палочка . . . . .	+	25 к	—	—	—	—	—	1 к	—	++	—	—
Паратифозная В палочка . . . . .	+	31 к	—	—	—	—	—	—	—	++	—	—
Кишечная палочка . . . . .	+	+	—	—	—	—	—	—	—	++	—	—
Протей Х <sub>19</sub> . . . . .	+	+	—	—	—	—	—	—	—	++	—	—
Стафилококк золотисто-желтый . . . . .	+	+	—	—	—	—	—	—	—	++	—	—
Стрептококк . . . . .	+	8 к	—	—	—	—	—	—	—	++	—	—
Дифтерийная палочка . . . . .	+	—	—	—	—	—	—	—	—	++	—	—
Туляремийный микроб штамм 430 . . . . .	+	—	—	—	—	—	—	—	—	++	—	—
Туляремийный микроб штамм 15 бул. 17 . . . . .	+	—	—	—	—	—	—	—	—	++	—	—
Чумный микроб штамм EV . . . . .	+	—	—	—	—	—	—	—	—	++	—	—
Чумный микроб штамм 17 . . . . .	+	—	—	—	—	—	—	—	—	++	—	—
<i>Brucella melitensis</i> штамм 1 . . . . .	+	—	—	—	—	—	—	—	—	++	—	—
<i>Brucella abortus</i> bovis " 11 . . . . .	+	—	—	—	—	—	—	—	—	++	—	—
Количественное содержание дубильных веществ в вытяжке . . . . .	0,5%		0,8%		1,01%		0,99%					

Условные обозначения: ++++ сплошной рост; +++ обильный рост; ++ скудный рост; + отсутствие роста; — отсутствие роста; к — колонии.

Необходимо отметить и то обстоятельство, что опыты, проведенные повторно в апреле 1951 г., т. е. через десять месяцев после первого испытания 10% спиртоводных вытяжек, показали значительное снижение их активности, особенно при 2-часовой экспозиции и отчасти при 5-часовой, в отношении ряда микробов. По-видимому, это снижение связано с длительностью хранения сырья.

При сопоставлении результатов действия водных и спиртоводных вытяжек (табл. 4 и 5) нельзя не отметить значительно большей эффективности последних. Едва ли допустимо, чтоб столь существенная разница в активности этих препаратов зависела от концентрации в них одних только дубильных веществ. Сравнивая действие 10% водной вытяжки с действием 5% спиртоводной на стафилококк и протей X<sub>19</sub>, мы констатируем, что гибель этих микробов в водном препарате наступает через 24 часа, в то время как подобный эффект получается уже после 5-часового воздействия спиртоводного препарата. А между тем количественное содержание дубильных веществ в этих вытяжках различается только лишь на 0,05%.

Таким образом, как более широкий диапазон фитонцидного действия спиртоводных вытяжек, так и сила их антибактериального эффекта зависят, очевидно, от бактерицидных веществ, растворяющихся в спирте, но почти нерастворимых в воде. К таким веществам относится, в первую очередь, эфирное масло, содержащееся в листьях рододендрона мелколистного.

На основании проведенных исследований можно допустить, что фитонцидами данного сибирского вида рододендрона является эфирное масло или его компоненты.

Рододендрон душистый (*Rhododendron Adamsii* Rhed.) (Флора СССР, 1952) образует заросли в альпийском и субальпийском поясах и у верхней границы лесной зоны. Растение свойственно Саянам, южной части Канского района, горам Бирюсинской системы, горам Забайкалья, Якутии и Дальнего Востока (Охстский район) и Прибайкалью (Прейн, 1884, 1888).

Заготовленный нами материал для исследования собран на Тункинских гольцах в окрестностях курорта Аршан (БМАССР). Среди местного населения Тункинского района это растение широко известно под бурятским названием «саган-дали»; в Култуке его называют «саган-далям». Отвары и настойки на водке из листьев рододендрона душистого применяют в народной медицине при самых различных заболеваниях. Кроме того, по сообщению местных жителей, это растение используется как средство против моли (шерстяные вещи пересыпают листьями или перекладывают ветками). Такое применение, в качестве инсектицидного средства (от моли), рододендрон душистый нашел, по-видимому, из-за своего сильного запаха.

Следует отметить, что среди сибирских рододендронов этот вид является наиболее душистым. Высушенные растения также обладают чрезвычайно приятным и стойким запахом.

Согласно материалам Забайкальской экспедиции ВИЭМ 1933 г. листья и цветы («да-ли-гар-бо») рододендрона душистого являются средством тибетской медицины. В смеси с можжевельником и каменной полынью это растение применяется для ванн. Имеется также указание об использовании растения с лечебной целью в Индии.

Для предварительных исследований (1949 г.) по выявлению фитонцидных свойств рододендрона душистого нами были использованы листья, заготовленные в 1948 г. в окрестностях Аршана; растения собраны в конце июля, после цветения.

Качественными реакциями мы обнаружили в листьях следы арбутина и подтвердили наличие эфирного масла; арбутин открывали после осаждения дубильных веществ реакциями с раствором хлорного железа, с азотной кислотой и реактивом Юнгмана. В листьях нами найдено 4,85% дубильных веществ, количественное определение которых проводилось по указанной ранее методике.

Изучение антимикробной активности препаратов из листьев рододендрона душистого проводилось по той же схеме и с применением той же методики, которая была использована при исследовании фитонцидных свойств препаратов из рододендрона даурского.

Прежде всего было установлено, что свежеприготовленные горячим настаиванием водные 10% вытяжки из сухих листьев, оказались губительными для дизентерийной палочки Флекснера, брюшнотифозной бактерии, золотисто-желтого стафилококка, стрептококка и дифтерийной палочки. Водные извлечения той же концентрации, но полученные способом холодного настаивания, оказались бактерицидными только для брюшнотифозного микроба.

Результаты этих опытов представлены в табл. 7.

Т а б л и ц а 7

Результаты предварительных опытов (1949 г.) по исследованию антимикробных свойств свежеприготовленных водных вытяжек из листьев рододендрона душистого (сбор 1948 г.)

Название микроба	Способ приготовления	
	горячее настаивание	холодное настаивание
Брюшнотифозная палочка . . . . .	—	—
Дизентерийная " . . . . .	—	+
Стафилококк золотисто-желтый . . . . .	—	+
Стрептококк . . . . .	—	+
Дифтерийная палочка . . . . .	—	+

Условные обозначения: — отсутствие роста; + рост имеется.

В последующих опытах (1950—1951 гг.), где согласно принятой нами методике испытывалось фитонцидное действие препаратов с суточным сроком давности изготовления, были получены приводимые далее результаты.

Водные вытяжки из листьев сбора 1948 г. (1:10) значительно задерживали рост некоторых видов микробов или вовсе убивали их только после 24-часовой экспозиции. Водные вытяжки содержали 0,23% дубильных веществ.

Значительно большую фитонцидную активность проявили спиртоводные препараты, изготовленные на 40° спирте. Бактерицидное их действие сказывалось уже после 5-часовой экспозиции, а тем более 24-часового воздействия. Так, после двухчасовой экспозиции погибали в извлечении (1:10) стрептококк и дифтерийная палочка,

после 5-часового воздействия — брюшнотифозная палочка, дизентерийная палочка Флекснера, протей X<sub>19</sub>, а после 24-часового воздействия погибали стафилококк и паратифозная В палочка. Из подвергнутых испытанию видов микробов сохранила свою жизнедеятельность лишь кишечная палочка.

Для наглядного представления об эффективности действия спиртоводных препаратов (1 : 10) приводим табл. 8.

Таблица 8

Антимикробные свойства спиртоводных вытяжек из листьев рододендрона душистого сбора 1948 г. (опыты 1951 г.)

Название микроба	Экспозиция (в часах)		
	2	5	24
Дизентерийная палочка Флекснера . . . . .	++++	—	—
Брюшнотифозная палочка . . . . .	+++	—	—
Паратифозная В палочка . . . . .	++++	+	—
Кишечная . . . . .	++++	++++	++++
Протей X <sub>19</sub> . . . . .	+++	—	—
Стафилококк золотисто-желтый . . . . .	+	+	—
Стрептококк . . . . .	—	—	—
Дифтерийная палочка . . . . .	—	—	—
Чумный микроб . . . . .	267 к	166 к	—
Туляремийный микроб . . . . .	+	—	—
Количественное содержание дубильных веществ в вытяжке . . . . .	0,34%		

Условные обозначения: ++++ сплошной рост;  
 +++ обильный рост;  
 + скудный рост; — роста нет;  
 к — колонии.

Полагая, что более высокая активность спиртоводных вытяжек зависит в основном от наличия в них действующих компонентов эфирного масла (так как дубильных веществ в них больше, чем в водных, лишь на 0,11%), мы решили проверить правильность нашего предположения на следующих опытах.

По методу мацерации были приготовлены вытяжки на спирте различных концентраций: 95, 40, 20 и 10°; отношение сырья к извлекателю, как и в предыдущих опытах — 1:10.

Для этой серии опытов было использовано сырье, собранное в ранее указанном районе между 20 и 25 июня 1949 г. во время цветения растений.

В связи с лучшей растворимостью эфирных масел в крепком спирте мы полагали, что вытяжка, полученная настаиванием листьев на 95° спирте, должна оказаться наиболее эффективной по антимикробному действию. Результаты испытания спиртоводных вытяжек подтвердили правильность нашего предположения, что видно из представленной ниже табл. 9.

## Эффективность действия вытяжек, приготовленных на спирте различных концентраций (1951 г.)

Концентрация спирта	95°			40°			20°			10°		
	Экспозиция (в часах)											
Название микроба	2	5	24	2	5	24	2	5	24	2	5	24
Дизентерийная палочка	++	+	—	++	34 к.	—	++	++	—	++	++	++
Флекснера . . . . .	++						++	++		++	++	++
Брюшнотифозная палочка . . . . .	++	+	—	++	+	—	++	++	70 к	++	++	++
Паратифозная В „	++	—	—	++	47 к.	—	++	++	++	++	++	++
Кишечная „	++	—	2к	++	+	+	++	++	++	++	++	++
Протей X <sub>19</sub> . . . . .	++	—	—	—	—	—	++	+	—	++	++	
Стафилококк золотисто-желтый . . . . .	++						++			++	++	
Стрептококк . . . . .	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	+	+
Количественное содержание дубильных веществ в вытяжке . . . . .	0,27%			0,35%			0,21%			0,14%		

Условные обозначения: ++ сплошной рост; ++ хороший рост;  
 ++  
 + скудный рост;  
 — роста нет; к — колонии.

Как это видно из таблицы, наиболее слабое антимикробное действие оказывают вытяжки, полученные при помощи 10 и 20° спирта. Значительно большая бактерицидность выявлена у извлечений, полученных с 40%, и особенно с 95° спиртом. Последние уже после 5-часовой экспозиции убивали большую часть видов микробов, из испытанных в опытах.

При сопоставлении результатов действия вытяжек, приготовленных на 95 и 40° спирта, можно констатировать, что антимикробная активность первого препарата несколько выше бактерицидности второго, а между тем дубильных веществ в нем меньше на 0,08%. Таким образом, и в данном случае нельзя сделать вывода о прямой зависимости между бактерицидными свойствами препаратов и концентрацией в них дубильных веществ. С большим основанием можно считать, что бактерицидная активность препаратов возрастает по мере накопления в них большего количества эфирного масла.

Следует отметить, что несколько меньшая эффективность препаратов, приготовленных на 40° спирте из сырья, заготовленного в 1948 г. (табл. 8), по сравнению с такими же препаратами, изготовленными из листьев сбора 1949 г. (табл. 9), по-видимому, связана с более длительным сроком хранения исходного материала. В первом случае листья хранились 3 года, во втором только 2 года.

Представляло значительный интерес несколько подробнее выяснить действие спиртоводных экстрактов рододендронов на холерного вибриона. С этой целью была поставлена серия опытов.

В одном из первых опытов по нашей, ранее принятой для исследования других групп микробов, методике было испытано действие спиртоводного экстракта рододендрона даурского, рододендрона мелколистного и рододендрона душистого.

Результаты этого опыта представлены в табл. 10.

Таблица 10

Антимикробные свойства спиртоводных вытяжек из листьев рододендронов сибирских

Экспозиция в часах	Рододендрон даурский				Рододендрон мелколистный				Рододендрон душистый			
	сразу	1	3	24	сразу	1	3	24	сразу	1	3	24
Холерный вибрион (штамм 140) . .	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-

Условные обозначения: + рост имеется;  
- отсутствие роста.

В этом опыте была лишь несколько изменена экспозиция — микробы выдерживались в смеси и высев проводился после одночасового, трехчасового и суточного выдерживания вибриона в растворе. Кроме того, один высев проводился немедленно после изготовления смеси, т. е. сразу же после эмульгирования микробов в растворе препарата.

Как видно из табл. 10, спиртоводная вытяжка из листьев каждого исследуемого рододендрона проявила значительную степень бактерицидности — уже после одночасового воздействия роста холерных вибрионов получить не удавалось.

В другом опыте была испытана бактерицидность различных разведений экстрактов из листьев рододендронов. А именно, было прослежено на холерных вибрионах действие исходного раствора (10% спиртоводный экстракт) и его разведений дистиллированной водой в отношении 1:2 и 1:10.

Результаты этого опыта видны из табл. 11.

Как видно из этой таблицы, бактерицидная способность спиртоводных экстрактов не снижается значительно, даже при их разведении физиологическим раствором поваренной соли в 10 раз. Лишь удлиняется срок, необходимый для того, чтобы вызвать гибель микробов. Так, разведения 1:2 или 1:10 губят холерных вибрионов только после пятичасового воздействия на них, в то время как в более концентрированных растворах вибрионы погибают уже после двухчасовой экспозиции. В одном из последующих опытов была проверена бактерицидность спиртоводных экстрактов сибирских рододендронов в отношении других штаммов холерного вибриона с одинаковым результатом. Все испытанные штаммы холерного вибриона погибали после одно-двухчасового воздействия на них вытяжек из листьев рододендрона.

Антимикробные свойства различных разведений спиртоводных  
вытяжек из листьев сибирских рододендронов в отношении  
холерного вибриона

Экспозиция в часах  Степень разведения раствора	Рододендрон даурский				Рододендрон мелколистный				Рододендрон душистый			
	сра- зу	2	5	24	сра- зу	2	5	24	сра- зу	2	5	24
Исходный . . . . .	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
1 : 2 . . . . .	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-
1 : 10 . . . . .	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-

Условные обозначения: + рост имеется; — роста нет.

Контрольные опыты с выдерживанием эмульсии вибрионов в течение 24 часов в физиологическом растворе поваренной соли всегда давали положительный результат — наблюдался при высеве через сутки на пластинку агара обильный рост вибриона.

В одной серии опытов было испытано действие растворов на более крепкую концентрацию микробов — было занесено в 1 мл раствора 10 миллиардов микробов, а не один миллиард, как практиковалось во всех других опытах. Результат был прежний, — и из такой густой эмульсии микробов роста получить уже после двухчасовой экспозиции не удавалось, хотя и высевалось на пластинку агара, по пересчету на приготовленную эмульсию, 2 миллиарда холерных вибрионов.

Обобщая результаты исследований по изучению фитонцидных свойств препаратов из трех эфирноносных представителей рода рододендрон, произрастающих в Сибири, — рододендрона даурского, рододендрона мелколистного и рододендрона душистого, мы констатируем значительную бактерицидную активность спиртоводных вытяжек в отношении ряда патогенных бактерий кишечной флоры, некоторых гноеродных микробов, а также в отношении протей  $X_{19}$  и дифтерийной палочки.

И, что для нас является наиболее интересным, удалось обнаружить явное бактерицидное действие в отношении ряда возбудителей особоопасных инфекций. Особенное внимание привлекает губительное действие препаратов рододендронов на холерного вибриона. Наряду с этим, мы отмечаем известную активность водных вытяжек, испытанных через сутки после их изготовления, в отношении взятых в опыт гноеродных микробов и протей  $X_{19}$ . По-видимому, активность водных препаратов зависит от наличия в них, наряду с дубильными веществами, и незначительных следов эфирного масла (Гаммерман и Шунинская, 1937), достаточных, однако, для оказания антимикробного действия.

Более высокую фитонцидную активность спиртоводных вытяжек и их больший диапазон действия, в смысле охвата различных представителей микрофлоры, можно объяснить тем, что спирт извлекает значительно большие количества эфирного масла.

Положительные результаты, полученные в многократно повторенных опытах (12—20), позволили нам предложить спиртоводные

препараты из исследованных объектов для клинического испытания при поражении кожи, вызванном гноеродными микробами.

С этой целью предварительно была установлена безвредность вытяжек. Испытание их безвредности проводилось на мелких лабораторных животных, и при этом было выяснено, что подкожное введение 0,5 мл или 1 мл водной, а также спиртоводной вытяжки не вызывало ни общих, ни местных изменений у белых мышей или белых крыс.

Следует также отметить, что в появившейся позже работе (Червяков, 1953), посвященной изучению диуретического действия сибирских рододендронов, автором отмечается безвредность водных вытяжек при их применении в терапевтических дозах внутрь подопытным животным (собакам).

Кроме того, нами установлено, что нанесение спиртоводных препаратов на здоровую кожу человека не вызывает никакой патологической реакции.

Предварительное испытание препаратов, приготовленных на 40° спирте, проводилось в 1951 году в кожно-венерической клинике Иркутского медицинского института (директор проф. М. С. Капун) для лечения случаев поверхностной пиодермии.

Вытяжки из рододендрона даурского оказывают сильно вяжущее действие, дают массивные корки, затрудняющие заживление. Однако на отграниченных и чистых эрозиях, без воспалительных явлений, препарат вызывает стягивание и заживление эрозии.

Действие вытяжек из рододендрона мелколистного несколько лучше, так как этот препарат вызывает образование более тонких корочек.

Вытяжка из рододендрона душистого показала большую эффективность: действие ее нежнее, антисептические свойства лучше выражены; заживление идет быстрее и без образования корок. Более нежное действие этого препарата зависит, на наш взгляд, от сравнительно небольшого содержания дубильных веществ (0,35%), а лучший терапевтический эффект — от эфирного масла рододендрона душистого.

Бактерицидное действие эфирных масел многих растений известно еще с конца прошлого столетия. Впервые исследованные нами препараты эфирноносных сибирских рододендронов обладают довольно высокой бактерицидностью в опытах *in vitro*. Предварительные результаты клинического испытания позволяют надеяться на получение действенных препаратов, которые смогут найти успешное применение во врачебной практике.

Дальнейшее комплексное исследование сибирских рододендронов поможет ввести в научную медицину новые природные бактерицидные средства — фитонциды этих растений.



## ЛИТЕРАТУРА

1. Бабич С. Е. и Медведева Р. Г. Факторы, влияющие на процесс извлечения дубильных веществ из растительного сырья. «Фармация», 1946, № 4, стр. 36.
2. Беленицкая Д. С. К. стандартизации листа толокнянки. Преп. Украинского института экспериментальной фармації, т. I, 1938, стр. 162.
3. Буш Е. Флора Сибири и Дальнего Востока. Вып. 2. Вересковые. 1915, стр. 14.
4. Ворошилов В. П. Поиски нового лекарственного растительного сырья, 1941, стр. 222.
5. Гаммерман А. Ф. Обзор лекарственных растений восточной медицины. Диссертация. Ленинград, 1940, стр. 38, 57, 184, 201, 211.
6. Гаммерман А. Ф. и Шупинская М. Д. Предварительное химическое исследование лекарственного сырья тибетской медицины, собранного Забайкальской экспедицией ВИЭМ. Фармация и фармакология, 1937, № 4, стр. 21, 23, 24, 25, 30.
7. Государственная фармакопея СССР. Изд. VIII, 1946, стр. 268, 532.
8. Курсанов А. Л. Определение различных форм дубильных веществ в растениях. «Биохимия», 1941, т. 6, вып. 3, стр. 312—324.
9. Медведева Р. Г. Сборник «Лекарственные сырьевые ресурсы Иркутской области и их врачебное применение». Иркутск, 1950, стр. 117—131.
10. Медведева Р. Г. Сибирское лекарственное растение рододендрон золотистый (кашкара). «Аптечное дело», 1952, № 3, стр. 29—32.
11. Натонек М. С. и Узденникова Т. С. Сборник докладов студентов Московского фармацевтического института. 1948—1949.
12. Прейн Я. Список растений, собранных в 1883 г. в некоторых местах Енисейской губернии. С.-Петербург, 1884, стр. 17—18.
13. Прейн Я. Первое прибавление к списку растений Енисейской губернии. Изв. Вост.-Сиб. отд. Русского географического общества, т. 19, 1888, № 2, стр. 12.
14. Прохорова О. А. и Лебедев И. М. Душистые растения Алтая и их эфирные масла. 1932, стр. 50, 70—71, 68—69.
15. Флора СССР. Т. 18, 1952, стр. 43—44.
16. Червяков Д. К. О диуретическом действии рододендронов. Труды Бурят-Монгольского зооветеринарного института, вып. 8, 1953, стр. 76—87.
17. Шергин В. И. Анатомо-морфологическое строение багульника (рододендрона даурского). Сборник «Лекарственные сырьевые ресурсы Иркутской области их врачебное применение». Иркутск, 1950, стр. 132—144.

## СОДЕРЖАНИЕ

<i>Э. И. Клец, В. П. Хрущелевский, Р. С. Колесник, З. С. Кудинова, Н. В. Олькова, Л. А. Смирнова.</i> О восприимчивости тарбаганов и длиннохвостых сусликов к экспериментальной чуме . . . . .	3
<i>А. К. Балабкин, А. Д. Солодкая.</i> Восприимчивость к чуме когтистых песчанок при экспериментальном заражении . . . . .	19
<i>Л. А. Тимофеева, Р. Р. Живоляпина.</i> Случай выделения <i>V. Paratyphi B.</i> от тарбагана . . . . .	26
<i>Е. Н. Хвещенко, Н. В. Синцова, З. В. Падалко.</i> Случай выделения листерелл в г. Ворошилове . . . . .	28
<i>В. Я. Головачева, Л. А. Тимофеева.</i> Выделение культур <i>Zisterela monopcytogenes</i> от морских свинок в питомнике . . . . .	31
<i>Л. А. Тимофеева, Л. И. Носкова.</i> О качестве питательных сред . . . . .	36 ✓
<i>Л. А. Тимофеева, В. Я. Головачева.</i> Цветная дифференциальная среда для чумных микробов . . . . .	46
<i>Б. А. Ерман.</i> Влияние различных концентраций гидролизата Хоттингера на морфологию колоний чумного микроба . . . . .	49 ✓
<i>Н. Д. Алтарева, Е. П. Потапова.</i> К вопросу о длительности сохранения возбудителя туляремии в иммунном организме белых мышей . . . . .	53
<i>В. Л. Титова, Е. П. Потапова.</i> К вопросу о механизме иммунитета при туляремии . . . . .	60
<i>Н. Г. Олсуфьев, М. П. Терещенко.</i> Диагностическое значение метода многократных пассажей на белых мышах при выделении культур <i>Bact tubarensis</i> различной вирулентности . . . . .	66
<i>В. Л. Титова, Г. А. Яромюк, Ф. З. Азаргинова, А. Е. Выборова.</i> К вопросу о получении устойчивой к лизису холерной моновакцины . . . . .	79
<i>Э. И. Клец, Р. С. Колесник.</i> К вопросу об исследовании вегетативных ганглиев у морских свинок при чуме . . . . .	82
<i>Р. С. Колесник, Н. Д. Алтарева, А. Ф. Пинигин.</i> Патоморфологическая и бактериологическая характеристика вызываемого бруцеллезным штаммом 793 инфекционного процесса . . . . .	89
<i>Н. Д. Алтарева, Р. С. Колесник.</i> Патоморфологические и бактериологические данные о бруцеллезе у зараженных после вакцинации живыми культурами морских свинок . . . . .	104
<i>Р. С. Колесник, Н. Д. Алтарева.</i> Патоморфологические и бактериологические данные о патогенных свойствах бруцеллезного штамма 793 при его накожном применении . . . . .	117
<i>В. С. Колесник.</i> К патоморфологии экспериментального аспирационного бруцеллеза . . . . .	135
<i>Р. С. Колесник, Л. Е. Хунданов, А. П. Какоуров.</i> Патоморфологические изменения органов у лошадей — продуцентов противохолерной сыворотки с положительными реакциями на бруцеллез . . . . .	154

Б. А. Ерман. Результат исследования на бруцеллез клещей Dermacentor Nutalli собранных в Читинской области . . . . .	165
Л. Е. Хунданов, Е. И. Ляковская, В. Я. Михалева, А. П. Калмыкова. Гамма- и бета-глобулины противочумной сыворотки и изучение их эффективности . . . . .	169
Е. И. Ляковская. Соотношение агглютинационного титра и эффективности противочумных сывороток . . . . .	173
П. А. Шершнев, Е. Д. Шкурко, Е. И. Ляковская, Л. Е. Хунданов. Очистка и концентрация противочумных сывороток нейтральными солями . . . . .	177
П. А. Шершнев, Е. И. Ляковская, Е. Д. Шкурко, Л. Е. Хунданов. Очистка и концентрация противочумных сывороток с применением ферментативного переваривания . . . . .	183
П. А. Шершнев. Сравнительная оценка различных методов очистки и концентрации противочумных сывороток . . . . .	188
Е. И. Ляковская, Л. Е. Хунданов, Е. Д. Шкурко. Изучение зависимости качества противочумной сыворотки от некоторых индивидуальных особенностей продуцентов . . . . .	207
✓ П. А. Шершнев, Л. Е. Хунданов, Е. Д. Шкурко, Н. П. Леонов. Опыт получения сухой противочумной сыворотки и изучение ее эффективности . . . . .	217
Л. Е. Хунданов, Е. Д. Шкурко. Действие биомицина на холерную инфекцию в эксперименте . . . . .	220
Л. Е. Хунданов, М. И. Безрукова, Ф. С. Азаргинова. Изучение комбинированного действия стрептомицина и иммунной сыворотки на экспериментальную холерную инфекцию . . . . .	225
Р. Г. Медведева, Э. И. Клец. О фитацидных свойствах сибирских рододендронов . . . . .	232

ЗАМЕЧЕННЫЕ ОПЕЧАТКИ

Страница	Строка	Напечатано	Следует читать
32	3 сверху	(8—12 часов)	(18—24 часа)
118	Табл. 1	Первые два знака сверху графы 2 „в месяцах“ относятся ко второй строке сверху—„железистая“; третий знак поставлен ошибочно. Два последних ряда граф 6—10 и 20 „в днях“ относятся к пятой строке—„железистая“. Второй знак сверху графы 1 и знаки графы 13, 5 „в месяцах“ относятся к строке 10 —„регионарная“. Последний ряд знаков графы 1 „в месяцах“ относится к последней строке—„генерализованная“.	
139	Последняя	плазматические гистиоци—	плазматические, гистиоци—
170	14 сверху	свойствам объяснить	свойствам резко отличались друг от друга, что следует объяснить
179	5 сверху	амония	аммония
186	3 снизу, 7 графа	66	60
196	2 снизу, 6 графа	66	60
200	3 снизу, 5 графа	38,6	38,8
"	3 снизу, 9 графа	+0,8	+0,6
203	График 2	Не указаны обозначения штриховок сывороток	Нештрихованные прямоугольники считать данными нативных сывороток
204	График 3	Обозначение КД без штриховки; обозначение нативной сыворотки прямыми полосами	Обозначение КД прямыми полосами; обозначение нативной сыворотки без штриховки
205	График 5	Цифра столбца нативной сыворотки продуцента Арии X 2,66	26,6
206	1 снизу	V	U
234	Условные	обозначения табл. 1	те же, что и табл. 2
237	26 сверху	0,13	0,13%
241	8 сверху	(табл. 4 и 5)	(табл. 5 и 6)
249	10 сверху	Zisterela	Listerela
	23 сверху	Bact tubarensse	Bact. tularensse
250	Предпоследняя	фитацидных	фитонцидных

Известия Иркутского государственного научно-исследовательского  
противочумного института Сибири и Дальнего Востока

Вып. № 14

Корректор *Л. В. Чернышева*  
Техн. редактор *Т. М. Трушкина*

---

Сдано в набор 12 апреля 1957 г. Подп. к печати 23 июля 1957 г. Печ. л. 21,2.  
Уч.-изд. л. 18. Бумага 70×108/16. Тираж 1000. Заказ № 895. НЕ 04179.

---

Иркутское книжное издательство, ул. Красной звезды, 18.

---

Типография № 1 отдела Полиграфиздата Иркутского областного управления  
культуры, г. Иркутск, ул. К. Маркса, 11.