

ИРКУТСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНО-
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ПРОТИВОЧУМНЫЙ ИНСТИТУТ
СИБИРИ И ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА

616.9
И.21

ИЗВЕСТИЯ

ИРКУТСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО НАУЧНО-
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ПРОТИВОЧУМНОГО
ИНСТИТУТА СИБИРИ И ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА

IX

09541 14560
11542 24511

БИБЛИОТЕКА
Иркутского Гос. научно-исслед.
Противочумного института
Сибирского Востока

г. ИРКУТСК,
1951 г.

РЕДАКЦИЯ:

Н. Д. Алтарева (ответственный редактор)
Э. И. Клец, Н. В. Некипелов, Л. И. Лешкович



А. А. АЙСЕЛИ

На служебном посту погиб 15 мая 1948 года во время автомобильной катастрофы вблизи города Иркутска Александр Алексеевич Айсели. Он был командирован в г. Иркутск для проведения обследования работы Иркутского Противочумного института.

А. А. Айсели (Хубутия) родился 15 мая (н. стилия) 1897 г. в городе Ново-Сенаки (ныне г. Цхакая) б. Кутаисской губернии (Грузия). По окончании в 1915 году Кутаисской гимназии А. А. Айсели переехал в г. Киев и поступил на медицинский факультет Киевского Университета. Февральская революция застаёт его студентом II-го курса и прерывает его занятия. К революционному движению А. А. Айсели примкнул находясь еще в Грузии и продолжал принимать в нем участие студентом в подпольной организации РСДРП. В период Великой Октябрьской революции и гражданской войны А. А. Айсели активно участвует в революционных событиях. В 1919 году он вступает в члены ВКП(б), с 1919 по 1922 год А. А. Айсели работал на ответственных должностях в органах ВЧК. В 1926 году А. А. Айсели окончил Харьковский медицинский институт и далее целиком отдается работе в области советского здравоохранения. С 1928 по 1930 год А. А. Айсели заведывал Ташкентским окружным отделом здравоохранения и одновременно был членом коллегии Узбекского Наркомздрава. С 1931 по 1936 год А. А. Айсели — начальник дорожного Санитарного Отдела Северной железной дороги в Москве. В 1936 году А. А. Айсели получает назначение начальником Управления охраны материнства и младенчества Наркомздрава СССР.

В октябре 1937 года А. А. Айсели получил назначение на должность Начальника Московской Наблюдательной Противочумной Станции и это учреждение он возглавлял до своей смерти.

А. А. Айсели, будучи опытным организатором и администратором, выделялся своим совершенно особым отношением к делу и людям. Его беззаветное служение делу Ленина—Сталина, его преданность к выполняемой работе, его постоянные заботы об окружающих были характерными чертами его деятельности. За свои редкие личные качества А. А. Айсели всегда пользовался всеобщей любовью и уважением.

За последние годы А. А. Айсели увлекся наукой. Его искренним желанием было создать при Наблюдательной Станции научную базу для разрешения вопросов, необходимых в целях профилактики особо-опасных инфекций.

А. А. Айсели положил начало этим исследованиям, занявшись выяснением роли серой крысы в эпидемиологии туляремии. По его инициативе сотрудник Наблюдательной Станции Л. А. Дудолкина занялась изучением роли блох, городских грызунов в передаче туляремии*).

Наряду с научной и административной деятельностью А. А. Айсели много внимания уделял общественно-политической работе. За год до своей смерти в 1947 г. А. А. Айсели был избран депутатом Октябрьского Районного Совета Депутатов трудящихся г. Москвы и как депутат возглавил постоянную Районную Комиссию Здравоохранения.

Трагическая смерть оборвала жизнь А. А. Айсели в расцвете его творческих сил. В день смерти А. А. Айсели исполнилось 51 год.

Жизненный путь этого человека — это замечательный пример беззаветного служения Родине.

Светлый образ А. А. Айсели неизгладим в памяти всех, знавших его.

Н. Г. ОЛСУФЬЕВ.

*) Результаты упомянутых исследований изложены в соответствующих статьях этого сборника.

Айсели А. А.

Московская наблюдательная противочумная станция
Министерства здравоохранения СССР.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТУЛЯРЕМИЯ У СЕРОЙ КРЫСЫ*

У серых крыс в естественных условиях неоднократно обнаруживали туляремийную инфекцию (Тер-Вартанов с сотр. 1943). Однако, степень восприимчивости и инфекционной чувствительности серой крысы к туляремии, а также значение крысы в качестве источника инфекции оставались неизученными, и поэтому эпидемиологическое значение этого вида грызуна было неясным. Отсюда возникла необходимость изучения этого вопроса в условиях эксперимента.

Серая крыса известна как грызун, тесно связанный обитанием с человеческим жильем и его окружением. Это сильный и ловкий зверек, хорошо приспособившийся к жизни в городских условиях. Крысы нуждаются в смешанном питании растительными и животными кормами. Они проявляют склонность к хищничеству и довольно часто нападают на мелких животных, которых могут одолеть. Крысы охотно питаются трупами животных и не брезгают различными отбросами.

В средних широтах крысы на лето довольно часто выселяются из жилья человека в природные станции, и в таком случае они обычно обитают по берегам водоемов.

*) Публикуемая работа А. А. Айсели, после его трагической гибели 15 мая 1948 года, была закончена С. К. Казанской, под руководством Н. Г. Олсуфьева и оформлена последним для печати.

Осенью крысы возвращаются в человеческое жилище. На юге известны постоянные поселения «диких» крыс в низовьях рек Волги, Дона, Днепра, Риона и других местах. Здесь крысы живут в одних стациях с водяными крысами (Жидков, 1944, Формозов, 1945, Кондрашкин, 1949). Серые крысы хорошо плавают в воде. Небольшие перепонки на пальцах лап указывают на то, что крысы в своем происхождении были в какой-то мере связаны с водной средой обитания. Распространенная на Дальнем Востоке крыса-карако, представляющая собой разновидность серой крысы, ведет себя примерно также как и европейская крыса, т. е. наряду с поселением в городе и поселках часть популяции живет оседло в природных условиях.

В военное время крысы приобретают особое значение, размножаясь массами в подвергшихся разрушению городах. Из разрушенных населенных пунктов крысы расселяются по блиндажам, землянкам и дзотам (Айзенштадт, 1945).

1. Материал и методика.

Для заражения использованы серые крысы, выловленные в городских условиях. После поимки крыс выдерживали в карантине обычно не менее 1 месяца. В опытах использованы взрослые крысы с средним весом 150—250 грамм. Лишь в немногих случаях подопытные крысы имели меньший или больший вес. До и во время опытов крысы содержались по одиночке в просторных металлических клетках и получали разнообразный корм, как то: хлеб, овес, крупу (в виде каши), свеклу, молоко, нерегулярно рыбу и яйца. Всего для опытов использованы 185 серых крыс. Кроме того, были поставлены параллельные опыты на 23 белых крысах. Последние, как известно, представляют собой лабораторную расу серых крыс.

Для заражения крыс в разное время были применены 5 штаммов *B. tularensis*: «Е», 40, 417, 460 и 9.

Штамм «Е» выделен от больного человека и получен из лаборатории проф. Л. М. Хатеневера. Этот штамм был применен в опытах 1946 года, но оказался малопатогенным для крыс, хотя белые мыши погибали от подкожного введения дозы, соответствующей 1 микробной клетке бактериального стандарта ЦГНКИ. Остальные штаммы оказались более пато-

генными для крыс. Они были использованы в опытах вскоре после выделения в очагах инфекции и в общем оказались сходными по своей вирулентности. Для белых мышей минимальная смертельная доза этих штаммов соответствовала 0,1 микробной клетке бактериального стандарта ЦГНКИ.

Штамм 40, выделенный от обыкновенной полевки, получен в начале 1947 г. от А. В. Машкова. Штаммы 417 и 460 выделены первый в 1947 г. и второй в 1948 г. из клещей *Dermacentor pictus* и получены от Н. Г. Олсуфьева. Наконец, штамм 9 выделен в декабре 1948 г. от обыкновенной полевки, получен от Н. Г. Олсуфьева.

Использование в настоящей работе штаммов различного происхождения позволило более полно выявить отношение серой крысы к туляремийной инфекции.

Для заражения применены бактериальные взвеси разной концентрации. Исходную взвесь готовили густотой 1 млрд. в 1 мл (по стандарту ЦГНКИ) из 2-х суточной культуры, выращенной при 37° на свернутой желточной среде.

У павших от лабораторного заражения крыс диагностика туляремии основывалась на патолого-анатомических изменениях, бактериоскопии и выделении (непосредственно или пассажем через белую мышь) культуры исходного штамма. Последнее считалось обязательным.

Выживших крыс забивали в различные сроки и их органы пассировали на б. мышах. В ряде случаев селезенку, костный мозг и кровь пассировали раздельно. Как правило, делали 2 последовательных пассажа на б. мышах, но в отдельных случаях число пассажей доводили до 4-х.

2. Опыты по заражению крыс подкожно.

13 крыс были заражены штаммом «Е» и 38 крыс штаммом 40, всего 51 крыса. Заражение зверьков производили под кожу в области правой задней ноги.

Штамм «Е» применен в дозах от 250 тысяч до 7,5 млрд. м. кл., тогда как штамм 40 в дозах от 1 тысячи до 10 млрд. м. кл. Бактериальную взвесь вводили крысам при дозе меньше 1 млрд. в объеме 0,5 мл., при дозе 1 млрд. и выше в объеме 1 мл. Результаты опытов представлены в таблице 1.

При заражении штаммом «Е» все крысы пали от дозы 7,5 млрд. м. кл. и 1 крыса из 4-х от дозы 5 млрд. м. кл. От дозы 1 млрд. и ниже все крысы выжили.

При заражении штаммом 40 все крысы пали от дозы 1 млн. м. кл. и выше и часть крыс пала от дозы 100 тыс. м. кл., тогда как от доз 10 и 1 тыс. м. кл. все крысы (по 5 на дозу) выжили.

Таким образом в опытах на крысах штамм 40 оказался заметно вирулентнее штамма «Е», хотя в опытах на белых мышках они мало отличались между собой. Обращает внимание удлинение сроков гибели крыс по мере уменьшения дозы заражения. Так, в опытах со штаммом 40 от дозы 1 млрд. все 5 крыс погибли в сроки 2—4 суток, а от дозы 1 млн. 3 крысы из 2-х погибли в затяжные сроки 14—30 суток, и только 1 крыса погибла на 3 сутки.

У павших крыс на вскрытии отмечены: инфильтрат на месте заражения, резкая гиперемия сосудов подкожной клетчатки, особенно у крыс, павших в короткие сроки, у многих крыс увеличение и гиперемия селезенки и увеличение печени, у некоторых крыс увеличение и гиперемия лимфатических узлов, в отдельных случаях гиперемия легких.

Из числа 30 павших от туляремии крыс, бактериоскопия органов оказалась положительной в 16 случаях, в том числе крови в 1 случае, селезенки и лимфоузла в 2-х случаях и костного мозга в 16 случаях. Количество обнаруженных бактерий обычно было небольшим. Эти данные указывают на слабое развитие септицемии у крыс даже в случаях острого течения туляремийной инфекции, сопровождающегося гибелью животного. Дальнейшие опыты подтвердили эти данные.

У всех, без исключения, павших крыс диагноз туляремии был подтвержден либо непосредственным высевом из органов (чаще всего из селезенки) культуры *B. tularensis*, либо биологическим путем, но также с последующим выделением исходной культуры.

В опытах с применением штамма 40 у 9 павших от туляремии крыс была исследована моча (добытая на секции из мочевого пузыря) и у 3-х крыс кал. Мочу вводили б. мышам подкожно, кал втирали на кожу. В моче туляремийный микроб обнаружен у 2-х крыс (в том числе у одной крысы одновременно биологическим путем и посевом на свернутую желточную среду) в кале — ни у одной.

Выжившие крысы в количестве 21 были забиты в различные сроки. Посевы и бактериоскопия сказались во всех случаях отрицательными.

Биологическое исследование органов забитых крыс (селезенки, костного мозга, крови) позволило в ряде случаев выявить в исследуемых органах туляремийных бактерий.

В опытах заражения штаммом «Е» бациллоносительство было обнаружено только у тех крыс, которые получили дозу 5 млрд м. кл. и были забиты в сроки 16—45 суток. У зверьков, зараженных дозами 1 млрд и ниже и забитых в сроки от 30 до 62 суток, возбудитель туляремии не обнаружен.

В опытах заражения штаммом 40 бациллоносительство обнаружено у всех 5-и крыс, зараженных дозой 1 тысяча, и у 3-х крыс из 5-и, зараженных дозой 10 тысяч микр. клеток, всего у 8-и крыс из 10-и. В первом случае крысы забиты на 15 сутки и во втором случае на 20 сутки после заражения. Кровь, селезенку и костный мозг забитых крыс пассировали на мышках отдельно и результат оказался следующим: *B. tularensis* обнаружен в селезенке у 7-и крыс, в костном мозгу у 6-и крыс и в крови у 3-х крыс. Внешне эти крысы выглядели нормально, на вскрытии у них заметных изменений в органах не обнаружено, кроме 2-х крыс, у которых отмечено увеличение селезенки.

При серологическом исследовании крови у 6-и забитых крыс (из 8-и обследованных) обнаружены агглютинины в разведении сыворотки 1:10 — 1:40 и у 4-х крыс (из 5-и обследованных) комплементсвязывающие вещества в разведении сыворотки 1:80—1:160.

2 крысы зараженные дозой 100 тысяч м. кл. и забитые на 40 сутки, оказались стерильными в отношении *B. tularensis*.

Так как в этих опытах обнаружилось, что серые крысы способны заражаться относительно небольшой дозой вирулентного штамма—1000 м. кл., значительно отстающей от минимальной смертельной дозы, возникла необходимость выяснить, не восприимчивы ли крысы к меньшим дозам, включая самые минимальные.

Опыт был поставлен на 38 серых крысах с применением свежесыведенного вирулентного штамма 417.

Подкожно заражены дозами 100 тыс. и 10 тыс. м. кл. 6 крыс, по 3 зверька на дозу, и дозами 1 тыс. 100, 10 и 1 м. кл. 32 крысы, по 8 крыс на дозу. После заражения крысы внешне не проявили заметных признаков заболевания, за исключением 1 крысы, которая пала спустя 24 суток от начала опыта. Она была заражена дозой 1 тыс. м. кл. На вскрытии у крысы обнаружены: гиперемия сосудов подкожной

Таблица 1

Результаты подкожного заражения серых крыс разными дозами штаммов «Е» и 40 микроба туляремии.

Штамм	Колич. зараж. крыс	Доза микробных клеток			
		1 тыс.	10 тыс.	100 тыс.	250 тыс.
«Е»	13				— —
40	38	— — — —	— — — —	— —	++ 23. 5.

(продолжение)

Доза микробных клеток								
1	10	100	250	500	1	5	7,5	10
млн.	млн.	млн.	млн.	млн.	мрд.	мрд.	мрд.	мрд.
			— —		— —	— —	+	+
							2.	6.
						—	+	+
						11.	7.	
++	++	++		++	++	++		++
3. 14.	3. 4.	1. 3.		2. 5.	3. 3.	2. 3.		2. 2.
++	+	++			++			
23. 30.	9.	3. 6.			4. 2.			
					+	+		+
					3.	3.		2.

Примечание: + крыса пала от туляремии;
цифра означает сроки гибели в сутках;
— крыса осталась живой.

клетчатки, слабое уплотнение селезенки, легкие кораллового цвета, гиперемия кишечника, увеличение надпочечников до размеров горошины.

В селезенке и костном мозгу при бактериоскопии обнаружены в небольшом количестве включения, сходные с туляремиальными бактериями, но посев из органов остался стерильным. В крови и лимфоузлах бактериоскопией микробы не обнаружены. 3 б. мыши, которым были раздельно введе-

10

ны селезенка, костный мозг и моча павшей крысы, погибли от типичной туляремии в сроки 8, 15 и 6 суток; параллельное исследование крови и кала крысы дало отрицательный результат.

Все выжившие крысы в количестве 37 особей были забиты в сроки от 15 до 90 суток. На вскрытии у большинства крыс заметных изменений в органах не обнаружено. У 6 крыс отмечено увеличение селезенки, у 4-х крыс точечные кровоизлияния в легких, у 2-х крыс резкое увеличение надпочечников.

31 крыса, зараженные дозами 1, 10, 100 и 1000 м. кл. были забиты в сроки 15, 20, 30 и 40 суток. Каждый раз забивали по 8 крыс, кроме последнего срока 40 суток, когда были забиты 7 крыс. В каждую из забиваемых групп были включены крысы, зараженные четырьмя различными дозами: 1, 10, 100 и 1000 м. кл., по 2 крысы на дозу. Последняя группа состояла из 7-и крыс, так как одна из крыс (8-я), зараженная дозой 1000 м. кл., пала на 24-е сутки (см. выше).

Бактериоскопия и посевы из крови, селезенки и костного мозга забитых крыс дали отрицательный на туляремию результат, за исключением одной крысы, зараженной дозой 1000 м. кл. и забитой на 15 сутки. От нее была высеяна культура из селезенки. Серологическое исследование крови забитых крыс позволило обнаружить в большинстве случаев агглютинины к *B. tularensis* и комплемент связывающие вещества.

Реакция агглютинации была положительной у 19 крыс (из 31) в том числе в титре 1:80 у 3-х; 1:40 у 2-х; 1:20 у 4-х; 1:10 у 8-и и 1:5 у 2-х крыс (см. таблицу 2). Учитывались реакции на 3 и 4 плюса. Чем позднее от момента заражения исследовали крыс, тем меньше в их крови обнаруживались агглютининов. Так, из 8-и крыс, забитых после заражения на 15-е сутки, агглютининов обнаружены у 7-и крыс, титр агглютининов колебался от 1:20 до 1:80. Из 7-и крыс, забитых после заражения на 40-е сутки, агглютининов обнаружены только у 1 крысы и в титре 1:10, у остальных крыс даже в разведении сыворотки 1:5 агглютининов не были обнаружены.

Реакция связывания комплемента, поставленная И. Н. Майским, была положительной у 19-и крыс (из 29-и), в том числе у большинства в титрах 1:80—1:60, у немногих выше

11

или ниже этих титров*). Реакцию ставили на холоду. У 10 крыс исследование оказалось неудачным, так как в контроле сыворотки (без антигена) была задержка гемолиза. Повидимому, это произошло вследствие того, что сыворотки были исследованы не сразу после их получения.

Всего, следовательно, иммунобиологические реакции обнаружены у 28 обследованных крыс (из 31). Для контроля была исследована кровь 4-х здоровых серых крыс и при постановке р. агглютинации и РСК получен отрицательный результат.

Отметим, что из 8-и крыс, зараженных дозой 1 м. клетка, положительные серологические реакции отмечены у 7-и крыс, в том числе реакция агглютинации была положительной у 6-и крыс, а реакция связывания комплемента у 4-х крыс. Биологическим путем (пассажем через б. мышь) *V. tularensis* был обнаружен в органах 20 крыс (из 31), в том числе спустя 15 суток у 8 крыс из 8 забитых (100%), спустя 20 суток у 7 крыс из 8 забитых (87%), спустя 30 суток у 4 крыс из 8 забитых (50%) и спустя 40 суток у 1 крысы из 7 забитых (14%).

Для выяснения вопроса о том, в каких органах у крыс чаще всего локализуется *V. tularensis* в разные сроки после заражения, кровь, селезенку и костный мозг от забитых крыс пассировали отдельно. Павших мышей исследовали на туляремию, выживших мышей забивали на 12—15 сутки и их органы пассировали далее. Применены 3 и в отдельных случаях 4 последовательных пассажа на б. мышах. Всего от 31 забитой крысы проведено 93 анализа (по 3 анализа от каждой крысы), из них положительными на туляремию оказались 35 анализов. *V. tularensis* обнаружен в селезенке у 19 крыс, в костном мозгу у 14 крыс и в крови только у 2-х крыс. Следовательно, по частоте инфицированности на первом месте оказалась селезенка. В крови *V. tularensis* был обнаружен только у тех 2-х крыс, которые были заражены относительно большой дозой 1000 м. кл. и забиты в наиболее короткий срок 15 суток. Следует остановиться на том, в каком пассаже удалось обнаружить присутствие в анализе *V. tularensis*, так как этот вопрос имеет методическое значение.

*) Полученные результаты в РСК соответствуют данным И. Н. Майского, опубликованным в ЖМЭИ № 2, 1949, из которых видно, что реакция связывания комплемента при туляремии является более чувствительной и дает более высокие титры, чем реакция агглютинации.

Таблица 2.
Результаты исследования на туляремию серых крыс, зараженных подкожно минимальными инфицирующими дозами штамма 417 и забитых в разные сроки.

№№ пп.	Через сколько суток после заражения крыса забита	Доза заражения микр. кл.	Результат исследования					Общий результат исследований на туляремию
			Бактериоскопия	Посев	Биопроба	Р. аггл.	РСК	
1.	15 с.	1	—	—	+	1:40	1:320	+
2.	»	1	—	—	+	1:80	*)	+
3.	»	10	—	—	+	1:40		+
4.	»	10	—	—	+	1:20	*)	+
5.	»	100	—	—	+	сомнит.	1:80	+
6.	»	100	—	—	+	1:80	*)	+
7.	»	1000	—	—	+	1:80	1:160	+
8.	»	1000	—	—	+	1:20		+
9.	20 с.	1	—	—	+	1:10	1:320	+
10.	»	1	—	—	+	1:10	*)	+
11.	»	10	—	—	+	0	1:160	+
12.	»	10	—	—	+	0	*)	+
13.	»	100	—	—	—	1:10	*)	+
14.	»	100	—	—	+	1:20	1:320	+
15.	»	1000	—	—	+	1:10	1:320	+
16.	»	1000	—	—	+	1:10	1:320	+
17.	30 с.	1	—	—	+	0	*)	+
18.	»	1	—	—	—	1:10	1:160	+
19.	»	10	—	—	+	1:20	1:320	+
20.	»	10	—	—	—	0	1:320	+
21.	»	100	—	—	+	1:10	1:80	+
22.	»	100	—	—	—	1:5	*)	+
23.	»	1000	—	—	+	1:5	*)	+
24.	»	1000	—	—	—	0	1:40	+
25.	40 с.	1	—	—	—	0	1:80	+
26.	»	1	—	—	—	1:10	1:40	+
27.	»	10	—	—	+	0	1:160	+
28.	»	10	—	—	—	0	*)	—
29.	»	100	—	—	—	0	1:80	+
30.	»	100	—	—	—	0	1:10	+
31.	»	1000	—	—	—	0	1:40	+

*) Задержка гемолиза в контроле сыворотки.

ние. В 31 анализе туляремия была выявлена уже в 1-м пассаже и в 4-х анализах во 2-м пассаже. В 3 и 4 пассажах туляремия ни разу не была выявлена.

В положительных случаях б. мыши 1-го пассажа пали от туляремии в сроки от 6 до 14 суток, чаще в сроки 8—11 суток. При инокуляции селезенки, обычно, мыши погибали на 1—3 суток быстрее, нежели при инокуляции костного мозга.

Удлиненные сроки гибели мышей в сочетании с стерильностью посевов и отрицательной бактериоскопией указывали на очень скудное количество бактерий в исследованных органах крыс, особенно в костном мозгу.

В случаях, когда *V. tularensis* был выявлен в анализе лишь во 2-м пассаже, б. мыши погибли от туляремии на 3—4 сутки. Можно предположить, что в этих анализах мыши 1-го пассажа были забиты преждевременно, но у них инфекция

Таблица 3.

Обнаружение *V. tularensis* биологическим путем в органах серых крыс, забитых в разные сроки после заражения сублетальными дозами вирулентного штамма 417.

Доза зараж. м. кл.	Колич. крыс	Исследов. органы	Через сколько суток после заражения крысы забиты								
			15 с.	15 с.	20 с.	20 с.	30 с.	30 с.	40 с.	40 с.	
1	8	кровь	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		селезенка	+	+	+	+	+	—	—	—	—
		к. мозг	+	+	+	—	—	—	—	—	—
10	8	кровь	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		селезенка	+	+	+	+	+	—	+	—	—
		к. мозг	—	+	+	+	+	—	+	—	—
100	8	кровь	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		селезенка	+	+	—	—	+	—	—	—	—
		к. мозг	—	+	+	—	+	—	—	—	—
1000	7	кровь	+	+	—	—	—	—	—	—	—
		селезенка	+	+	+	+	+	—	—	—	—
		к. мозг	+	+	—	+	—	—	—	—	—

Примечание: + положительный анализ на *V. tularensis*;
— отрицательный анализ на *V. tularensis*.

уже находилась в стадии генерализации. Известно, что от введения минимальных доз *V. tularensis* белые мыши могут погибнуть от острой инфекции в сроки до 15 суток.

В итоге из 31 забитых крыс только у одной крысы (№ 28) все исследования на туляремию оказались безуспешными, тогда как у остальных 30 крыс инфекцию удалось доказать либо непосредственным обнаружением в органах микроба туляремии, либо обнаружением в крови специфических антител к нему, а во многих случаях и тем и другим способом (см. таблицу 2).

6 крыс, зараженных дозами 10.000 и 100.000 м. кл., были забиты на 90-й день от начала опыта. Тщательное исследование их органов, с применением 3-х пассажей на б. мышах, оказалось безуспешным. В крови у всех 6-и крыс обнаружены агглютинины к *V. tularensis* в титрах: 1:10—1:20 и у 5 крыс комплемент связывающие вещества в титрах 1:10—1:40 и в 1 случае 1:320. Обнаружение у крыс специфических антител указывало, что они перенесли туляремийную инфекцию.

У 2-х контрольных крыс р. агглютинации и РСК оказались полностью отрицательными.

Подводя общий итог этому опыту, можно заключить, что серые крысы восприимчивы к туляремии при заражении всеми дозами, начиная от минимальной дозы, соответствующей 1 м. кл. бактериального стандарта, но эти дозы вызвали у крыс доброкачественную инфекцию, сопровождавшуюся выздоровлением, и только в одном случае при заражении дозой 1000 м. кл. заболевание крысы закончилось летальным исходом.

3. Опыты по заражению крыс алиментарным путем.

Опыты были поставлены на 24 серых и 1 белой крысах. Применены штаммы «Е» и 9. Тринадцати крысам скормлены каждой по 3 белых мыши, павших от экспериментального заражения небольшими дозами штамма «Е». Скармливание производилось в течении 3-х дней, по 1 мыши в день. У мышей в органах содержалось громадное количество *V. tularensis*, что было установлено бактериоскопией.

Крысы охотно съели предложенные им трупы мышей.

Все подопытные крысы выжили, за исключением одной крысы, павшей от посторонней причины на 5-е сутки. На вскрытии у этой крысы обнаружены гнойники в легких, вы-

димо обусловленные посторонней инфекцией. Посевы из селезенки, костного мозга и других органов этой крысы, а также многократные пассажи этих органов на б. мышах, остались безуспешными. У 5-ти крыс, забитых в сроки 7—13 суток, в органах обнаружен *B. tularensis*, но только биологическим путем. У 7-и крыс, забитых в сроки 20—40 суток, инфекция не была обнаружена.

Кроме этих опытов, одной серой крысе были скормлены печень, легкое и сердце другой серой крысы, павшей от туляремии на 6-е сутки после подкожного заражения дозой 7,5 млрд. м. кл. штамма «Е». В скормленных органах бактерий было мало, последние обнаружены только посевом и биологическим путем. Подопытная крыса выжила, была забита на 23 сутки, но исследование ее органов с применением бактериоскопии, посева и биопробы остались безуспешными. Слабый результат изложенных опытов мог быть поставлен в связь с недостаточной вирулентностью штамма «Е», которым заражали крыс, поэтому опыты были повторены с применением более вирулентного штамма 9, который в нативном состоянии поддерживали в лаборатории путем пассажей на белых мышах. Чистоту пассируемого штамма проверяли бактериоскопией и контрольным посевом.

Под опыты использованы 10 серых и 1 белая крысы. 5-и крысам было скормлено по 1 мышью, 2-м крысам по 2 мыши и 4-м крысам (в том числе белой)—по 3 мыши, павших от туляремии. Трупы мышей содержали огромное количество *B. tularensis* (кровь IV балла). Скармливание 2-х и 3-х мышей произведено, соответственно, в течение 2-х и 3-х дней, по 1 мышью в день.

Крысы охотно съели трупы мышей.

От туляремии пали 5 крыс, в том числе 2 крысы, съевшие по 1 мышью, 1 крыса, съевшая 2-х мышей и 2 крысы (одна серая, другая белая) съевшие по 3 мыши. Крысы погибли в сроки от 4 до 7 суток от острой туляремии. У павших крыс при вскрытии обнаружены увеличение и гиперемия подчелюстных лимфоузлов (до крупной гречи) гиперемия подкожной клетчатки (у некоторых крыс резкая), увеличение селезенки в 2 и больше раз, увеличение и частичное жировое перерождение печени (глинистый оттенок), в 1 случае гиперемия легких с очагами кровоизлияний. Со стороны органов пищеварения особых изменений не обнаружено, лишь у одной крысы отмечена гиперемия кишечника.

Бактериоскопия была положительной у 4-х крыс, бактерии туляремии обнаружены в небольшом количестве в селезенке (2 балла) и в 1 случае в крови. Посев из селезенки дал положительный результат от трех крыс, в том числе от крысы у которой бактериоскопия была отрицательной, от остальных двух крыс посев оказался неудачным из-за посторонней флоры.

Биологическое исследование органов павших крыс во всех случаях оказалось положительным: все 5 биопробных мышей пали от типичной туляремии, подтвержденной выделением исходной культуры.

Оставшиеся живыми 6 крыс были забиты на 20-е сутки внешне крысы выглядели нормально.

При вскрытии обращали на себя внимание увеличенная селезенка и у некоторых крыс увеличенные подчелюстные и шейные лимфатические узлы.

Посевы и бактериоскопия мазков из органов забитых крыс оказались безуспешными, но биологическим путем (в 1-м пассаже на б. мышах) у всех 6-и крыс в селезенке обнаружен *B. tularensis*. Последнее свидетельствовало о перенесенной крысами туляремийной инфекции.

Подводя итоги этим опытам можно заключить, что применив более вирулентный штамм оказалось возможным доказать, что крысы, поедая туляремийные трупы грызунов не только инфицируются, но и могут в отдельных случаях погибнуть от острой туляремии.

4. Опыты по заражению крыс через нос.

Назально были заражены 10 серых крыс. Применены дозы 10 тысяч, 100 тысяч, 1 млн., 10 млн. и 100 млн. м. кл., каждой дозой заражены по 2 крысы. Для заражения использован вирулентный штамм № 9. Заражение крыс произведено под эфирным наркозом, бактериальную взвесь в объеме 0,1 мл. вводили им в ноздри.

От туляремии пали 3 крысы в сроки 9, 18 и 20 суток; они были заражены, соответственно, дозами 100 млн., 100 тыс. и 10 тыс. м. кл. На вскрытии у крыс обращали на себя внимание изменения в легких: в 2-х случаях легкие были почти сплошь гепатизированы (красное опеченение), в третьем случае легкие были гиперемированы (кусочки легкого не тонули в воде), но грудная полость была заполнена прозрачным экссудатом. Кроме изменений в легких у павших крыс

отмечена гиперемия сосудов подкожной клетчатки, увеличение и гиперемия селезенки.

Бактериоскопия органов во всех случаях была отрицательной, посев удался только от одной из павших крыс, в том числе из селезенки и гепатизированного участка легкого. Последнее указывало на туляремийное происхождение изменений в легких павших крыс. Биологическое исследование органов оказалось положительным на туляремию у всех трех крыс.

Остальные 7 крыс за время опыта внешне выглядели нормально, прибавили в весе и были забиты на 20-й день после заражения. У них на вскрытии отмечено увеличение шейных, подчелюстных лимфоузлов (иногда до чечевичы) и селезенки. В легких особых изменений не обнаружено. Бациллоносительство в органах констатировано биологическим путем (в 1-м пассаже на б. мышах) у 5-и крыс, тогда как исследование органов остальных 2-х крыс оказалось безуспешным, несмотря на 2 пассажа на б. мышах. Посевы и бактериоскопия мазков от всех 7-и крыс оказались отрицательными на туляремию.

5. Опыты по выяснению возможности провокации туляремийной инфекции у переболевших крыс.

С целью выяснения возможности отдаленной генерализации туляремийной инфекции у крыс, зараженных сублетальными дозами вирулентного штамма *B. tularensis*, и далее поставленных в неблагоприятные условия существования, был поставлен опыт на 62 серых и 22 белых крысах. Применен подкожный способ заражения вирулентным штаммом 460, дозами от 1 тысячи до 500 млн. микробных клеток. Дозой 10 тысяч м. кл. заражены 44 серых крысы, остальными дозами по 2—4 крысы (см. таблицу 4). На каждую дозу заражения серые и белые крысы были подобраны одинакового веса.

В группе серых крыс от туляремии пали 5 зверьков, в том числе 2 крысы, зараженных дозой 500 млн. м. кл. и 3 крысы от дозы 10 тыс. м. кл. В группе белых крыс погибли 6 зверьков, в том числе часть крыс, зараженных дозами 500 млн., 10 млн. и 1 млн. и все крысы от дозы 100 млн. м. кл. Так как серые и белые крысы были подобраны на каждую дозу заражения одинакового веса, можно заключить, что в этом опыте белые крысы оказались немного чувствительнее к туляремии, нежели серые крысы.

Таблица 4.

Подкожное заражение серых и белых крыс вирулентным штаммом 460.

Раса крыс	Доза микробных клеток	Количество зараж. крыс	Колич. крыс, павших от туляремии	Сроки гибели
Дикая (серые крысы)	500 млн.	2	2	3 и 4 сутки
	100 млн.	2	—	—
	10 млн.	3	—	—
	1 млн.	3	—	—
	100 тыс.	4	—	—
	10 тыс.	44	3	9,9 и 12 суток
	1 тыс.	4	—	—
Лабораторная (белые крысы)	500 млн.	2	1	3 суток
	100 млн.	2	2	2 и 6 суток
	10 млн.	3	1	4 суток
	1 млн.	3	2	12 и 16 суток
	100 тыс.	4	—	—
	10 тыс.	4	—	—
	1 тыс.	4	—	—
Всего:		84	11	

Выжили 73 крысы, в том числе 57 серых и 16 белых крыс. Они были поделены на 4 группы, а именно: в I группу включены 12 серых и 9 белых крыс, во II группу 19 серых крыс, в III группу 18 серых крыс и в IV группу 8 серых и 7 белых крыс. Группы I, II и III были подвергнуты различным неблагоприятным воздействиям, IV группа служила контролем.

I группа спустя 15 дней, II группа спустя 30 дней и III группа спустя 60 дней после заражения были переведены на автоклавированный корм, т. е. на неполноценное в отношении витаминов питание. Корм, состоявший из крупы, овса и ржаных сухарей, дважды автоклавировался по 1 часу при 2-х атмосферах.

Одновременно с переводом на неполноценное питание, 3 раза в неделю крыс подвергали переохлаждению купанием в воде со снегом (температура воды 2—3°). Крыс купали до тех пор, пока они становились малоактивными, на что уходило 2—3 минуты.

Контрольных крыс содержали как обычно и им давали нормальный корм.

Подопытные крысы I, II и III группы погибли в сроки 52—202 дня от начала опыта (после заражения).

За это же время в контрольной (IV-й) группе погибла всего 1 (белая) крыса, остальные 14 крыс (8 серых и 6 белых) оставались внешне здоровыми.

Таблица 5.

Сроки гибели крыс при неполноценном питании и периодическом переохлаждении

Группа	Порода крыс	Количество крыс	Количество крыс, погибших в сроки (в сутках)						Всего пало крыс	Выжило крыс за время опыта
			до 60	61—90	91—120	121—150	151—180	181—210		
I	серая	12	1	3	8	—	—	—	12	0
	белая	9	—	1	4	2	1	1	9	0
II	серая	19	—	—	4	12	2	1	19	0
III	серая	18	—	—	—	8	8	2	18	0
IV (контроль)	серая	8	—	—	—	—	—	—	—	8
	белая	7	—	—	—	—	1	—	1	6
		7	—	—	—	—	1	—	1	6
Всего:		73	1	4	16	22	12	4	59	14

В I-й группе первая крыса погибла на 52-й день (через 37 дней после перевода на автоклавированный корм). Большинство крыс погибло на протяжении 3-го и особенно 4-го месяцев от начала опыта (т. е. после заражения).

Крысы II-й группы в большинстве погибли на протяжении 5-го месяца. Наконец, крысы III группы почти все вымерли в течение 5-го и 6-го месяцев. К началу 7-го месяца еще оставались живыми 4 крысы (в том числе 1 крыса из I-й группы, 1 крыса из II-й группы и 2 крысы из III-й группы).

Чтобы ускорить гибель этих крыс, они были переведены на половинную норму питания, после чего они довольно быстро погибли. Последняя крыса (белая) погибла на 202 день от начала опыта. С момента перевода на автоклавированный корм и купание крысы I, II и III групп погибли по большей части спустя 2—4 месяца.

Эти данные указывают на общую весьма высокую устойчивость серых крыс к неблагоприятным воздействиям.

У павших крыс отмечалось резкое общее истощение — в среднем крысы за время неполноценного питания теряли 35% веса, но в отдельных случаях до 46% такового. Патолого-анатомические изменения в органах, если отмечались, не напоминали туляремию. Селезенка обычно была нормального размера, дряблая. Отмечалась небольшая гиперемия сосудов подкожной клетчатки, в легких довольно часто обнаруживались очаги кровоизлияний, иногда гепатизация отдельных долей, реже абсцессы. Лимфатические узлы не были увеличены.

Органы павших крыс были подвергнуты тщательному бактериологическому исследованию с применением двухкратного и в отдельных случаях трехкратного пассажа на белых мышках. От крыс пассировали совместно селезенку и костный мозг.

В 3-х случаях у павших крыс в органах был обнаружен *B. tularensis*, в том числе у 2-х серых и у 1 белой крысы, а именно:

Подопытные крысы	Доза заражения м. кл.	Сроки гибели			Срок гибели пассажной мыши
		после заражения	после перевода на неполноценное питание		
1. Серая крыса № 117	1 млн.	52 с.	37 с.	7 с.	
2. Серая крыса № 113	100 млн.	117 с.	102 с.	12 с.	
3. Белая крыса № 1368	10 тыс.	65 с.	50 с.	9 с.	

Бактериоскопия селезенки была положительной только у одной крысы № 117, тогда как у остальных она была либо сомнительной, либо отрицательной. В прочих органах, включая кровь, *B. tularensis* не обнаружен.

Посевы на свернутую желточную среду во всех случаях оказались стерильными, что указывало на слабое обсеменение

ние органов микробом туляремии. Культуры были выделены от крыс только через биопробных белых мышей, павших в 1-м пассаже в сроки 7—12 суток от типичной туляремии.

Патолого-анатомические изменения у крыс, равно как и условия выделения культур, свидетельствовали о том, что крысы погибли скорее от истощения и посторонних причин, нежели от туляремии, но они оказались туляремийными бактерионосителями.

Приведем протокол вскрытия крысы № 113, павшей на 117 сутки. Резкое истощение. Крыса (взрослая самка) потеряла за время опыта 40% первоначального веса (исходный вес 288 грамм, вес трупа 173 грамма). Небольшая гиперемия сосудов подкожной клетчатки и подчелюстных лимфоузлов. Селезенка не увеличена. Гиперемия легких, в верхней доле правого легкого небольшой участок красного опеченения (тонет в воде). Гиперемия тонкого кишечника. Посевы из органов стерильны, бактериоскопия отрицательная. Б. мышь, которой была инокулирована подкожно взвесь из селезенки и костного мозга, пала на 12 сутки от туляремии, диагноз подтвержден выделением культуры *V. Tularensis*.

У остальных 47 серых и 9 белых крыс, павших в разные сроки, *V. tularensis* не был обнаружен.

Контрольные 8 серых и 6 белых крыс (из IV группы) были забиты спустя 6 1/2 месяцев после заражения и их органы подвергнуты бактериологическому исследованию, включая применение биопроб на белых мышках. Возбудителя туляремии у этих контрольных крыс обнаружено не было.

Обсуждение результатов.

Опыты показали, что серые крысы обладают сравнительно высокой восприимчивостью к туляремии. При подкожном введении высоко вирулентного штамма *V. tularensis* оказалось возможным, например, заразить крыс дозой, соответствующей 1 микробной клетке бактериального стандарта ЦГНКИ. Но погибали крысы от туляремии только в тех случаях, когда заражение производилось массивными дозами. При подкожном введении смертельная доза колебалась от 1 миллиона до 7 1/2 млрд. микробных клеток в зависимости от вирулентности штамма. Чаще всего крысы погибали в короткие сроки, от 2 до 6 суток, но в отдельных случаях гибели наступала в сроки до 30 дней.

22

Следовательно, обладая высокой восприимчивостью к туляремии, крысы проявляют к этому заболеванию относительно небольшую инфекционную чувствительность. Применительно к туляремии у грызунов уточнение понятий восприимчивости и инфекционной чувствительности предложено Олсуфьевым и Дунаевой (1950). Под восприимчивостью авторы предлагают понимать общую способность вида заразиться туляремией с теми или иными симптомами, безотносительно к исходу заболевания, тогда как под инфекционной чувствительностью — степень реактивности животного, определяемую смертельным исходом заболевания. «Порог» или степень восприимчивости, а также чувствительности, определяют соответствующими наименьшими дозами вирулентного штамма при определенном способе заражения.

Серые крысы по своему отношению к туляремийной инфекции резко отличаются от домашних мышей, полевок, водяных крыс и многих других грызунов. У этих последних видов грызунов высокая восприимчивость сочетается с высокой чувствительностью к туляремии. Заражающая доза для них обычно совпадает со смертельной дозой. Для серых крыс смертельная доза оказалась в миллион и больше раз превосходящей заражающую дозу. Встречающееся в литературе мнение о серых крысах, как о животных «маловосприимчивых» или «резистентных» к туляремии не совсем верно отражает отношение крыс к туляремийной инфекции и поэтому должно быть оставлено. Их правильнее называть восприимчивыми, но малочувствительными к туляремии животными.

Высокая восприимчивость серых крыс к туляремии при подкожном способе заражения, который практически, равноценен внутрикожному (Дунаева, в печати) дает основание полагать, что крысы в отдельных случаях могут заразиться через посредство переносчиков. Это предположение, однако, нуждается в экспериментальной проверке, но заранее можно сказать, что при этом способе заражения инфекция должна протекать у крыс, как правило, доброкачественно и заканчиваться выздоровлением. Переносчики могут действовать лишь «малыми дозами», которые для крыс несмертельны.

При назальном и алиментарном способах заражения степень восприимчивости серых крыс к минимальным дозам осталась не выясненной. Однако, доказано, что от массивных доз заражаются почти все крысы, из них некоторые зверьки погибают от острой туляремии, а большая часть — выживает.

23

В опытах заражения алиментарным путем крысам при скармливании туляремийных трупов б. мышей вводилось неизмеримо большее количество бактерий, нежели в опытах с подкожным заражением*). Тем не менее, некоторые крысы выжили даже после поедания 3-х трупов мышей. Это указывает на то, что к алиментарному способу заражения туляремией крысы много менее чувствительны, нежели к подкожному заражению. Эти данные совпадают с опытами на полевках (Олсуфьев и Дунаева в печати) и домовых мышах (Терешенко в печати), в которых эти виды зверьков проявили значительно меньшую чувствительность к алиментарному заражению туляремией в сравнении с подкожным. Повидимому, к назальному способу заражения крысы также менее чувствительны, нежели к подкожному способу.

В наших опытах со скармливанием 2 крысы из 5 пали от туляремии съев по одному трупу мыши, остальные крысы переболели. Так как в естественных условиях серые крысы часто хищничают и едят трупы, в том числе грызунов, алиментарный способ заражения туляремией для них, несомненно, имеет определенное значение.

Крысы, заразившись этим путем, в отдельных случаях могут погибнуть от туляремии.

Что касается роли крыс в качестве источников инфекции, то здесь следует отметить у них следующую важную особенность патогенеза туляремии. При всех способах заражения у большинства павших от туляремии крыс количество бактерий в органах и в особенности в крови было незначительным.

Так, из числа павших от туляремии 43 серых и 7 белых, всего 50 крыс (в том числе 40 крыс, подвергнутых подкожному, 5 крыс алиментарному и 3 крысы назальному заражению) *V. tularensis* обнаружен бактериоскопией в крови только 2-х крыс (4%) и в обоих случаях число бактерий было незначительным. В органах (селезенке, костном мозгу, лимфатическом узле) *V. tularensis* был обнаружен посевом у 37 крыс (74%) и бактериоскопией у 21 крысы (42%). Отрицательный результат посева и бактериоскопии (при положительном биологическом исследовании) отмечен у 11 крыс (22%). Напомним, что в отличие от серых крыс, высокочувствительные к

*) По данным А. В. Машкова у павшей от туляремии белой мыши в селезенке на 1 грамм веса содержится 100 миллиардов микробных клеток *V. tularensis* (доклад на научной конференции Московского имени Мечникова института ЭМИ).

туляремии домовые мыши, полевки и другие грызуны болеют и погибают, как правило, с интенсивной бактериемией и массивным обсеменением бактериями паренхиматозных органов — селезенки, печени и проч. При доброкачественном течении заболевания, оканчивающемся выздоровлением, обсеменение органов у крыс бывает минимальным. Так, у 8 крыс, забитых на 15 сутки после подкожного заражения сублетальными дозами вирулентного штамма, бактериоскопия и посев из крови, селезенки и костного мозга оказались отрицательными. Но применяя пассаж на б. мышах бактерии были обнаружены в селезенке у всех 8 забитых крыс, в костном мозгу у 6 крыс, а в крови — только у 2-х крыс. Обнаружение бактерий только биологическим способом указывает на то, что их было мало в исследованных органах крыс.

Наличие у большинства серых крыс слабо выраженной бактериемии даже в острых случаях заболевания, а также относительно небольшая обсемененность внутренних органов, затрудняют выход микробов во внешнюю среду. При этих условиях на крысе не может произойти эффективное инфицирование переносчиков. Моча и кал таких крыс также содержат относительно небольшие количества бактерий. Из 9 павших от острой туляремии крыс *V. tularensis* был обнаружен в моче только у 2-х крыс. Все это ограничивает значение крыс, как источников инфекции.

В наших опытах выжившие крысы некоторое время были бактериноносителями. Бактерии обнаруживались, но в очень небольшом количестве, в селезенке и в костном мозгу и отсутствовали в крови. Очень возможно, что в данном случае бактериноносительство представляет собой фазу нестерильного иммунитета. До 20 дня после заражения бактерии обнаружены у большинства забитых крыс. В более отдаленные сроки количество находок уменьшалось, но в единичных случаях бактерий удалось обнаружить в органах крыс спустя 40—45 дней после заражения. У переболевших крыс в крови обнаружены агглютинины к *V. tularensis* и комплементсвязывающие вещества.

Начиная с 3-й недели после заражения и позднее, выжившие крысы были подвергнуты неблагоприятному воздействию путем неполноценного питания автоклавированным кормом, и переохлаждения купанием, но ни в одном случае не удалось получить у подопытных зверьков генерализации инфекции. Все крысы погибли в сроки от 52 до 202 дней, но не от туляремии, а главным образом от истощения. В этих опытах бы-

ли установлены единичные случаи более длительного бациллоносительства, в том числе у 1 крысы *B. tularensis* был обнаружен (биологическим путем) спустя 117 суток после заражения и 102 суток после перевода на неполноценное питание. Генерализации инфекции, очевидно, препятствовал активный иммунитет, возникавший у крыс в результате заражения сублетальными дозами вирулентного штамма.

Так как в опытах выяснилось, что вследствие особенностей патогенеза (и, очевидно, иммуногенеза) серые крысы имеют ограниченное значение в качестве источников туляремийной инфекции, особенно если они переболевают, сомнительно, чтобы в естественных условиях среды чистой популяции серых крыс могла сколько нибудь продолжительно осуществляться циркуляция *B. tularensis*, т. е. поддерживаться эпизоотии туляремии.

Серые крысы подвергаются заражению, очевидно, в тех случаях, если в местах их обитания возникает эпизоотия среди других более чувствительных к туляремии и болеющих с массивной септициемией грызунов, например, домовых мышей, водяных крыс и т. д. Но ввиду своей малой чувствительности к инфекции, серые крысы, вовлекаясь в эпизоотии, должны играть в этом процессе скорее роль «биологического тормоза» нежели «горючего материала». Зверьки чаще, видимо, заражаются туляремией поедая больных грызунов и их трупы, но после того в большинстве выживают. Бациллоносительство у переболевших зверьков, подчас довольно длительное, мы рассениваем в свете имеющихся экспериментальных данных как закончившийся в эпизоотологическом смысле процесс, так как выход для бактерий наружу, несомненно, затруднен.

Вышеизложенное дает основание заключить, что серая крыса имеет ограниченное значение в эпизоотологии туляремии. Соответственно, в качестве источника заражения туляремией человека серая крыса также должна представлять относительно небольшую опасность, за исключением каких либо особых обстоятельств. Учитывая агрессивность крыс, в отдельных случаях следует, например, считаться с возможностью заражения туляремией от укуса инфицированной крысы. При обилии крыс в тесном окружении человека, укусы крыс не представляют собой редкого явления. Можно также предполагать, что в отдельных случаях употребление продуктов, загрязненных выделениями остро болеющих туляремией крыс, повлечет за собой заражение людей.

ВЫВОДЫ

1. При подкожном заражении серые крысы оказались восприимчивыми к небольшим дозам высоковирулентных штаммов *B. tularensis*, в том числе к минимальной дозе, соответствующей 1 микробной клетке бактериального стандарта ЦГНКИ. Но гибель крыс от туляремии имела место только от массивных доз возбудителя, например, от 1 миллиона микробных клеток и выше, и только в редких случаях от меньших доз. Менее вирулентный штамм «Е» обусловил гибель всех крыс только в дозе 7 1/2 млрд. микробных клеток.

2. При назальном введении бактериальных взвесей в дозах от 10.000 микробных клеток до 100 млн. микробных клеток заразились почти все крысы, но погибли от туляремии лишь немногие зверьки.

3. При скармливании крысами туляремийных трупов белых мышей, массивно обсемененных *B. tularensis*, заразились все крысы, но пала от туляремии меньшая часть зверьков. В опытах со скармливанием по 1 мышью, пали от туляремии 2 крысы из 5-ти. В опытах с применением менее вирулентного штамма «Е» все крысы выжили, хотя каждая крыса съела по 3 мыши.

4. У большинства павших от туляремии серых крыс, зараженных разными способами, количество бактерий в различных органах и в особенности в крови было незначительным. Это ограничивает значение крыс, как источников инфекции.

5. Выжившие крысы некоторое время были бациллоносителями. До 20 дня после заражения бактерии обнаружены в селезенке и костном мозгу у большинства забитых крыс, в более отдаленные сроки количество находок уменьшилось, в немногих случаях бактерий удалось обнаружить в органах крыс спустя 40—65 суток и в одном случае — через 117 суток после заражения. Очень возможно, что бациллоносительство в данном случае представляет собой фазу нестерильного иммунитета и, видимо, не имеет эпизоотологического значения. Попытка получить у переболевших крыс последующую генерализацию инфекции путем неблагоприятных воздействий (автоклавированный корм, охлаждение купанием) оказалась безуспешной.

6. В естественных условиях серые крысы могут подвергаться заражению туляремией в тех случаях, если в местах их обитания возникают эпизоотии на других, более чувствитель-

ных к туляремии и болеющих с более интенсивным сепсисом грызунах, как то: домовых мышах, полевках, водяных крысах и т. д. Заражение серых крыс, надо полагать, чаще всего происходит при поедании массивно инфицированных трупов грызунов. Но сомнительно, чтобы в популяции серых крыс туляремийная эпизоотия могла бы развиваться самостоятельно: крысы малочувствительны к туляремии, а выход бактерий из организма больной крысы затруднен (слабая бактериемия, недостаточно инфицированы моча и кал). По этой же причине для человека серые крысы как источники туляремийной инфекции представляют относительно небольшую опасность.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Айзенштадт Д. С. Некоторые данные по распространению и образу жизни серой крысы *Rattus norvegicus* лесного района сев. зап. части РСФСР. Зоолог. журнал, т. XXIV, в. 3, 1945.
2. Дукельская Н. М. Распространение и биология серой крысы. Труды ЦНИДИ, том 3, 1947.
3. Житков Б. М. Замечания о крысах и некоторых условиях их исследования. Зоолог. журнал, т. XXIII, в. 3—4, 1944.
4. Кондрашкин Г. А. О серых крысах дельты Волги. Бюлл. Моск. О-ва Исп. Природы, нов. серия, т. 54, в. 2, 1949; то же сборн. «Грызуны и борьба с ними» Саратовского И-га «Микроб», выпуск III, 1950.
5. Олсуфьев Н. Г., Дунаева Т. Н., Емельянова О. С., Петров В. Г. Изучение свойств *V. tularensis* и его биологических взаимоотношений с животными-носителями и клещами-переносчиками. Вестн. Акад. Мед. Наук, № 3, 1950.
6. Тер-Вартанов В. Н., Захарченко С. К., Иоффе И. Г., Каганова Л. С., Покровская М. П., Тифлов В. Е. и Федина О. А. Эпизоотии туляремии и методика их обнаружения. ЖМЭИ, № 7—8, 1943.
7. Формозов А. Н. Несколько дополнений к статье Б. М. Житкова «Замечания о крысах и некоторых условиях их исследования». Зоолог. Журнал, т. XXIV, в. 2, 1945.

Михалева В. Я. и Ухалов А. С.

НОВАЯ СРЕДА ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ ТУЛЯРЕМИЙНОГО И ЧУМНОГО МИКРОБОВ

Чувствительной средой для туляремийного микроба является желточная среда Мэк-Коя, состоящая из 60% куриного желтка и 40% физиологического раствора. Эта среда пригодна для изучения микроба и, особенно, для диагностических целей. В качестве производственной среды Френсис предложил цистиновый агар с сахаром и кровью. Длительное культивирование на этой среде ведет к утрате вирулентных свойств туляремийным микробом. За последние два десятилетия нашими советскими авторами предложен ряд новых сред: агар с цистином и рыбным гидролизатом, витаминный агар Бейля, селезеночный, печеночный агар и другие среды. Из этих сред в широкую практику в нашем Союзе, как производственная среда, вошел агар с цистином и рыбным гидролизатом. Среда очень сложна по своему составу и не так проста и по приготовлению.

В 1945 г. Дрожжевкиной предложена жидкая желточная среда для туляремийного микроба. Автор рекомендует ее как чувствительную диагностическую среду.

В 1946 г. начальник отдела питательных сред А. С. Ухалов для выращивания чумного микроба предложил новую среду — агар-агар, изготовленный на сыром растворе Хоттингера. Выход микробной массы с этой среды резко возрос. В нативных эмульсиях концентрация микробных тел в 1 см³ достигла до 120—180 млрд микробных тел, вместо 60—70 млрд получаемых с агара, приготовленного на обычном бульоне Хоттингера. Случайно, при изготовлении туляремийной

вакцины в бактериологических контролях на стерильность, было обнаружено, что туляреминый микроб пышно растет на простом агаре, предложенном Ухаловым. Поэтому мы занялись изучением этой среды, которая заключает в себе без добавления других ингредиентов достаточное количество питательных веществ, необходимых для роста туляреминого микроба.

Методика приготовления среды

1. Берется свежее мясо, отделяется от жира и сухожилий и пропускается через мясорубку. Один кг мясного фарша заливается кипящей водой в количестве 1,5 л, при этом мясной фарш должен белеть. Горячая вода льется медленной струей. Во время заливания фарш размешивается. Холодный мясной фарш рекомендуется предварительно подогреть до комнатной температуры. Залитый кипящей водой мясной фарш, остуженный до температуры 45—50°, сливается в бутылку, куда добавляется 1,5 г двууглекислой соды, 100,0 свежей поджелудочной железы, пропущенной через мясорубку, и 25,0 хлороформа. При взбалтывании бутылки пробку необходимо открывать, чтобы выходили пары хлороформа. Мясной фарш осаждается на дно бутылки, сверху образуется буро-красная жидкость. Бутылку встряхивают и ставят в термостат с температурой 30—35° на двое суток. Через двое суток бутылку с настоем вынимают из термостата и выдерживается при комнатной температуре 18—20° в течение 8—10 дней, при ежедневном двукратном встряхивании. Перевар будет готов, когда бурокрасная жидкость приобретет насыщенный желтый цвет, при этом мясной фарш расплывается и образуется небольшой мелкий, крошковатый осадок. Когда жидкость примет насыщенно-желтый цвет, бутылку оставляет в покое в течение 2—3 дней. С помощью резинового шланга жидкость отсасывается в чистую бутылку, плотно закрывается пробкой и хранится в холодном месте. Полученный сырой раствор Хоттингера не стерилизуется и в таком виде сохраняется продолжительное время.

2. Приготовление сычужного пептона. Сычуг рогатого скота свежего забоя отделяется от жира, осторожно обмывается и пропускается через мясорубку. На 400,0 фарша добавляется 1 л 1% соляной кислоты. Дальнейшее приготовление идет по методике изготовления пептона Мартена.

Для приготовления питательной среды Ухалова берется: пептон сычуга 250,0 обычной мясной воды 250,0 сырого на-

стоя основного раствора Хоттингера 500,0 и поваренной соли — 3,0. Вся смесь кипятится в течение 5 минут, после чего устанавливается рН 7,4 и снова кипятится 5 минут. Среда фильтруется через бумажный фильтр, закладывается 20,0 агар-агара, предварительно вымоченного. При расплавлении агара не допускается кипячения, так как это изменяет свойства среды. Стерилизация среды при $T^{\circ} 120^{\circ}$ в течение 20 минут*).

При туляремии нами испытана вторая модификация среды Ухалова. Для ее приготовления берется сырого настоя основного раствора Хоттингера 1000,0, поваренной соли 4,0. Вся смесь кипятится в течение 3 минут, после чего устанавливается рН 7,4 и снова кипятится 3 минуты.

Собственные наблюдения

В своей работе мы поставили перед собой на разрешение, в первую очередь, следующие вопросы в отношении туляреминого микроба: определение посевной дозы, выход микробной массы, изменение свойств микроба при выращивании на среде Ухалова и изучение ее как диагностической среды.

Мы работали с тремя туляремиными штаммами № 6 и № 9 (авирулентные) и № 2535 (вирулентный). В качестве контроля и сравнения мы взяли две среды — желточную и цистиновый агар с рыбным гидролизатом. Среда была разлита по флаконам емкостью 30 см³ и по пробиркам. Посевы выращивались в термостате при температуре 37°. Наблюдение за посевами велось в течение 7 дней. С помощью платиновой петли туляреминая культура с желточной среды пересеивалась на агар Ухалова (первая модификация), желточную среду и цистиново-сахарный агар с рыбным гидролизатом. Высев одной петли давал сплошной обильный слизистый рост через двое суток как на среде Ухалова, так и на желточной. На цистиновой среде через 5 суток появлялся не сплошной рост, а в виде многочисленных отдельных колоний по штриху посева. Для определения посевной дозы засеивалось во флаконы с указанными средами определенное количество микробов по кишечному стандарту ЦГНКИ.

Для посева бралась 2-суточная желточная культура, эмульгированная в физиологическом растворе. Всего поставлено 4 опыта с тремя туляремиными штаммами.

Результаты опыта приведены в таблице 1.

* Для практического использования нужно плавить агар на водяной бане перед разливкой его в бактериологическую посуду. Дать среде остыть в той же горячей воде для осаждения осадка.

Таблица 1

Среда	Туляремийные штаммы	Через 2-е суток						Через 5—7 суток					
		3 млрд м. т.	1 млрд м. т.	500 млн м. т.	50 тыс. м. т.	5 тыс. м. т.	500 м. т.	3 млрд м. т.	1 млрд м. т.	500 млн м. т.	50 тыс. м. т.	5 тыс. м. т.	500 м. т.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Желточн. среда	№ 6	+++	++	++	+	+	+						
	№ 9	+++	++	+	+	+	+						
	№ 2535	+++	++	+	+	+	+						
Среда Ухалова	№ 6	+++	++	+	+	+	0						
	№ 9	+++	++	+	+	0	0						
	№ 2536	+++	++	+	+	0	0						
Среда цистиновой агар с рыбным гидролизатом	№ 6							++	+	+	0	0	0
	№ 9							++	+	+	0	0	0
	№ 2535							++	+	+	+	0	0

Примечание: +++ означает сплошной обильный рост, ++ сплошной, + изолированный, несплошной рост, 0 — отсутствие роста.

Из таблицы видно, что на желточной среде и среде Ухалова рост туляремийного микроба появлялся через двое суток, а на цистиновой среде рост был медленный (5—7 суток). Туляремийный микроб на желточной среде вырастал при посевной дозе в 500 микробов. Минимальная посевная доза туляремийного микроба на среде Ухалова находилась в пределах от 50 тыс. до 5 тыс. микробных тел в 1 см³, а на цистиновой среде с рыбным гидролизатом — от 50 тысяч до 500 млн. микробных тел.

Таким образом, по чувствительности на первом месте стоит желточная среда, на втором — среда Ухалова и на последнем цистиновая среда с рыбным гидролизатом. Флаконы — косяки, засеянные 3-миллиардной эмульсией туляремийного микроба на указанные выше среды были смыты одинаковыми объемами физиологического раствора, при этом мы получили выход микробной массы с каждого флакона агара Ухалова от 5 млрд. до 10 млрд микробных тел в 1 см³, с желточной среды от 500 млн до 600 млн микробных тел в 1 см³, а с цистиновой среды с рыбным гидролизатом мы получили через семь дней роста от 2 млрд до 3 млрд микробных тел в 1 см³.

Таким образом, на среде Ухалова выход микробной массы при густом засеве, примерно, в 5—10 раз больше, чем на желточной среде. Следовательно, эта среда, как производственная, имеет в данном отношении все преимущества перед желточной и цистиновой средами.

При высевах с желточной среды на чашку с агаром Ухалова мы получали один тип колоний: колонии круглые, с резко очерченным краем, непрозрачные, с ровной поверхностью, центр более светлый, чем периферия, структура колоний однородная, цвет колоний от слегка желтоватого до темнубурого цвета, консистенция слизистая. Реакция с триоплавином 1:500 отрицательная. Наблюдение за посевами велось в течение 15 дней; явлений диссоциации мы не наблюдали. Морфология микроба в мазках во всех генерациях посева оставалась типичной для туляремии. Туляремийные штаммы, проведенные несколько раз через среду Ухалова, хорошо агглютинировались специфической сывороткой до пределов титра с полным осаждением на дно пробирки конгломератов бактерий. У иммуногенных штаммов иммуногенные свойства сохранялись на протяжении 2—3 генераций на среде Ухалова. В этом мы убедились как в эксперименте на свинках, так и при производстве живой вакцины для вакцинации населения в очагах туляремии.

Живой вакциной, приготовленной из иммуногенных штаммов № 6 «сухой», после выращивания в двух генерациях на среде Ухалова были вакцинированы подкожным способом 8 морских свинок. В контрольном заражении массивной дозой вирулентной культуры (1000 Д₅₀) через 1 месяц после вакцинации все эти свинки остались живы, четыре контрольных свинок пали от туляремии в обычные сроки.

В одном из туляремийных очагов нами провакцинировано подкожным и подкожным способом живой вакциной Гайского 871 человек. Вакцина готовилась из иммуногенных штаммов № 9 и № 3 «сухой». Для изготовления туляремийной живой вакцины применялась двухсуточная культура туляремийного штамма, выросшая на среде Ухалова. Музейные культуры сохранялись на желточной среде, откуда пересевались по необходимости на среду Ухалова. Посевы выращивались при T° 37°. Вакцина готовилась для подкожного способа густотой в 50 млн. микробных тел в 1 см³ и для подкожного способа в 10 млрд м. т. в 1 см³.

Аллергическая внутрикожная проба, поставленная у привитых, через 16—17 дней после прививки дала положитель-

ный результат, в 87—92% случаев. Этот опыт говорит об иммуногенных качествах вакцины. Таким образом, как наблюдения на животных, так и на людях говорят нам о том, что иммуногенные штаммы, выращенные в 2—3 генерациях на среде Ухалова, не теряют от этого своих иммуногенных свойств и сама среда может быть с полным основанием рекомендована как простая по приготовлению и выгодная для производственных целей.

Чувствительность среды и пригодность ее для диагностических целей была испытана при исследовании животных, погибших при заражении вирулентными и слабо вирулентными туляремиными штаммами.

В нашем распоряжении было 17 белых мышей, погибших от туляремии. Из лимфатических желез, печени, селезенки и крови этих животных были сделаны посевы на среду Ухалова и желточную среду. При этом нами не было подмечено особой разницы в результатах этих посевов на указанные среды. Культура вырастала одинаково хорошо как на той, так и на другой среде.

При аналогичных посевах из органов 10 морских свинок, погибших от туляремии, мы во всех случаях имели рост на желточной среде и ни в одном случае не наблюдали специфического роста на среде Ухалова.

Изложенные наблюдения говорят о недостаточной чувствительности последней среды как диагностической по сравнению с желточной. Повидимому, посевные дозы из органов погибших от туляремии мышей были достаточны для роста как на той, так и на другой среде. Посевные дозы из органов погибших от туляремии морских свинок были, видимо, недостаточны для роста на среде Ухалова и вполне достаточны для роста на желточной среде. Возможно, что здесь играет роль не только количество микробов у мыши и свинки, но и их состояние. Как диагностическая среда Мэк-Коя чувствительнее среды Ухалова.

Для проверки роста чумного микроба на среде Ухалова (первая модификация), было поставлено 10 опытов. Для контроля применялась среда Филдса и обычный агар, приготовленный на бульоне Хоттингера. Перевар Филдса хранился в запаянных ампулах, добавлялся растопленный, слегка охлажденный агар в количестве 5% и разливался в чашки Петри.

В опыты было взято 10 различных музейных чумных штаммов. Для посева брались двухсуточные агаровые культуры, из которых готовились различные разведения на физио-

логическом растворе с различным содержанием микробов в 1 см³. Посевы выращивались в термостате при температуре 28° в течение 2—7 дней. Полученные данные опытов представлены в таблице 2.

Таблица 2

Среды	Посевная доза	Чумные штаммы											
		120	125	113	116	99	105	124	65	48	130		
Среда Ухалова	500 млн.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	5 »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	500 тыс.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	50 »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	5 »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	500 м. т.	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+
Среда Филдса	500 м. т.	0	+	+	+	+	0	0	+	+	0	+	+
	500 млн.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	5 »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	500 тыс.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	50 »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	5 »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+
Обычный агар Хоттингера	500 м. т.	+	+	0	+	+	0	0	+	0	0	+	0
	500 млн.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	5 »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	500 тыс.	0	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+
	50 »	0	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+
	5 »	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+	0

Примечание: + обозначает наличие чумного роста; 0 — отсутствие роста.

Из приведенной таблицы, таким образом, видно, что лучшие результаты роста получены на среде Ухалова и среде Филдса. На среде Ухалова рост чумы получен даже при посевах таких малых доз как 50 микробов в 1 см³ в 6 случаях из 10 посевов, а при посевной дозе 500 микробов рост получился в 9 из 10 посевов. На среде Филдса рост чумы получился при посевной дозе в 50 микробов в 8 случаях из 10. На обычном агаре Хоттингера рост получался только при дозе в 500 тыс. м. т. в 1 см³, при этом мы имели рост в 8 случаях из 10 посевов; в дозе 50 тыс. микробных тел в 1 см³, в 6 случаях из 10 и в дозе 5 тыс. м. т. в 2 случаях из 10. При посевной дозе 500 и 50 микробных тел рост чумы вообще не наблюдался.

Таким образом, среда Ухалова не уступает среде Филдса как диагностическая среда и значительно превосходит по чувствительности обычный агар Хоттингера. На среде Ухалова рост чумы появлялся на 1—2 сутки. Колонии развивались в форме платочков, затем быстро наступало созревание колоний с образованием очень узкой периферической светлой зоны. Колонии в большинстве случаев бугристые, с хорошо выраженным центром, с темнокоричневой окраской. В мазках отпечатках с колоний морфология чумного микроба была в виде крупной палочки, некоторые экземпляры которых имели биполярную окраску. Реакция с трипофлавином 1:500 положительная. При изолированном росте на чашках мы наблюдали развитие крупных гигантских колоний в очень небольшом количестве мелких росовидных колоний с типичными для чумы морфологическими свойствами.

На обычном агаре Хоттингера развитие колонии типично для чумы, колонии зернистые, с нежной периферической зоной, с бледной желтоватой окраской. В мазках-отпечатках из колонии грам-отрицательная палочка мелкая, полиморфная. Выход микробов при 2-суточном выращивании при $T 37^{\circ}$, с одной пробирки агара среды Ухалова от 10—12 млрд. м. т. в 1 см^3 и с обычного агара Хоттингера от 1—3 млрд. микробных тел в 1 см^3 .

Высев из органов морских свинок, павших от чумы, на среде Ухалова дал обильный рост по всем штрихам посева, на обычном агаре Хоттингера — обильный рост в первых трех штрихах посева.

Живая чумная вакцина готовилась из чумных штаммов № 52 и № 62 на среде Ухалова. Чумные культуры выращивались при $T^{\circ} 28^{\circ}$ в течение 2 суток. Живой чумной вакциной сованы на кожном способом 10 морских свинок: по 5 морских свинок на кожном способом 10 морских свинок: по 5 морских свинок для каждого штамма. В контрольном заражении массивной дозой вирулентной культуры чумы (10.000 *Dztm*) через 1 месяц после вакцинации все опытные морские свинки остались живы, пять контрольных пали от чумы на 5-й — 6-й день.

Этот опыт говорит об иммуногенных качествах вакцины. Следовательно, чумные штаммы, выращенные на среде Ухалова, не теряют своих иммуногенных свойств и сама среда может быть использована для производства чумных вакцин.

Биохимические свойства среды Ухалова будут описаны в следующем сообщении.

ВЫВОДЫ

1. Среда Ухалова может быть рекомендована как производственная в виду простоты ее приготовления, дешевизны и обильного роста на ней («выход») туляремийного и чумного микробов, без заметного влияния при культивировании в ряде поколений на их морфологические, культуральные и иммуногенные свойства.

2. Эта среда при туляремии по своей чувствительности для бактериологической диагностики уступает желточнй среде Мэк-Коя.

3. При чуме среда Ухалова может быть рекомендована как производственная, так и для диагностических целей, особенно в полевой обследовательской работе, как среда более чувствительная, чем простой обычный агар Хоттингера и не уступающая в этом случае и среде Филдса.

М. И. Анциферов и А. Ф. Пинигин

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ ТУЛЯРЕМИЙНЫХ ШТАММОВ И ПОДБОР НАИБОЛЕЕ ЭФФЕКТИВНОЙ ВАКЦИНИРУЮЩЕЙ ДОЗЫ

Специфическая профилактика туляремии разрабатывалась как советскими, так и иностранными исследователями. По различным путям шли исследователи к цели. Одни испытывали туляремиальные вакцины, приготовленные из убитых различными способами вирулентных туляремиальных культур (Гайский, Эльберт, Синай, Хатеневер, Левченко, Френсис, Аоки, Кудо). Другие применяли живые авирулентные, вирулентные (сублетальные дозы) и ослабленные в своей патогенности туляремиальные культуры (Эльберт, Гайский, Френсис, Кудо, Готшлих и Голем Саид Билаль).

Кроме того, исследовались фильтраты вирулентных культур (Френсис). Турецкий исследователь Эз предложил в качестве вакцины эндотоксин, полученный им из туляремиальных культур. Однако, единого мнения в оценке эффективности испытанных вакцин исследователи не получили.

Так, Френсис в экспериментах на белых мышках и морских свинках не получил положительного результата ни от убитых, ни от живых вакцин, ни от фильтратов вирулентных туляремиальных культур. Кудо в своих экспериментах с вакциной из живых авирулентных культур получил хорошие результаты. Разноречивые данные были получены исследователями при применении убитых вакцин.

Аоки с сотрудниками Кудо, Даунс и др. в экспериментах с убитыми вакцинами получили обнадеживающие результаты, тогда как другие исследователи не наблюдали при этом положительного эффекта (Гайский, Эльберт, Френсис). Все эти

вакцины не вышли за пределы лабораторной практики и не имели производственного значения.

По данным авторов вакцина сообщает организму иммунитет, выражающийся в том, что:

а) вакцинированные перенесли болезнь легче и скорее, чем невакцинируемые;

б) из 5-и вакцинированных лабораторных работников трое не заболели, несмотря на продолжительный контакт с инфекцией, и двое заболели в чрезвычайно легкой форме.

В этом авторы усматривают эпидемиологическую эффективность вакцины.

Вопрос специфической профилактики туляремии был успешно разрешен в нашей стране работами Гайского и Эльберта. Они приготовили живую вакцину из аттенуированных туляремиальных штаммов, обладающих «остаточной» вирулентностью для белых мышей. Эта вакцина в экспериментах на лабораторных животных, а затем и на людях в очагах туляремии показала исключительно высокие иммуногенные свойства. Она создает быстрый и продолжительный иммунитет. При правильной дозировке процент прививаемости приближается к 100. Препарат безвреден и толерантен.

Применение вакцины Гайского по методу Эльберта (накожная вакцинация) упрощает процесс прививок, дает возможность в короткое время охватить вакцинацией значительные контингенты.

Вакцина Гайского получила широкое распространение в нашей стране, как препарат специфической профилактики. До настоящего времени ею в различных модификациях провакцинировано в различных точках Советского Союза более ста тысяч человек.

«Как лечебное средство, она настолько эффективна, что должна занять ведущую роль, как специфический метод лечения туляремии» (Космачевский, Затерухина, Вырлан).

Таким образом, вакцина Гайского имеет большую эпидемиологическую и терапевтическую значимость.

Работа Гайского по аттенуации штаммов представляет исключительный научный и практический интерес. В этой работе Гайский выступил как представитель прогрессивного, материалистического направления в медицинской науке. Он показал, что внешние воздействия на туляремиальный микроб приводят к изменению его наследственных свойств. Таким образом в своих работах Гайский подтвердил правильность учения Мичурина, его применимость в микробиологии.

Чрезвычайно существенным является вопрос о сохранении свойств штаммов.

Из литературных данных известно, что при хранении туляремийных штаммов на желточной среде в течение ряда лет с ежемесячными пересевами — свойства штаммов изменяются. Утрачивается вирулентность, иммуногенные свойства и при длительном хранении штамм может даже утратить способность к росту.

Для того, чтобы быть уверенным в эффективности проводимой профилактической вакцинации необходимо проверять вакцинальные штаммы на сохранение ими иммуногенных свойств.

Полученные Гайским штаммы были неоднократно испытаны в опытах как на лабораторных животных, так и на людях. Они показали высокие иммуногенные свойства. С 1942 г., в течение 6-и лет эти штаммы сохраняются на желточной среде при комнатной температуре. Ежемесячно пересеваются на свежую желточную среду.

Существование спонтанных носителей туляремии не исключает возможности эпизоотий на грызунах и вспышек на людях. Это обстоятельство настоятельно требует от нас иметь высокоиммуногенные штаммы, проверять иммуногенные свойства и рекомендовать для целей профилактики наиболее эффективные из них.

В настоящей работе мы даем иммунологическую характеристику некоторых производственных штаммов, на основании аллергической реакции, поставленной на людях в туляремийном очаге, а равно и устанавливаем наиболее эффективную вакцинирующую дозу.

Осенью 1947 и 1948 г. г. в туляремийных очагах нами была проведена проверка иммунологических свойств 8 вакцинальных туляремийных штаммов (табл. 1) Одновременно решался вопрос о наиболее эффективной вакцинирующей дозе.

Таблица 1

Список вакцинальных туляремийных штаммов, взятых для изучения их иммунологических свойств

№ и название штамма	Дата выделения	Объект выделения	Метод выделения	Место выделения
1. 2-й сухой VI генерации	2/IV-27	Из органов водяной крысы		

№ и название штамма	Дата выделения	Объект выделения	Метод выделения	Место выделения
2. 14-й сухой VI генерации	12/IV-41	Из органов полевки Михно	Через биопробу	Кабанский р-н БМАССР
3. 15-й бульонный XVII генерации	17/II-41	Из органов ондатры	Оригиналь- ный	Кабанский р-н БМАССР
4. 19-й сухой VI генерации	4/XII-40	Из органов домовых мышей	Через биопробу	Орджоникид- зевский край
5. 6-й сухой VI генерации	22/IV-41	Из органов ондатры	Через биопробу	Кабанский р-н БМАССР
6. 3-й исходный	26/IV-41	Из органов трупа овцы	Через биопробу в 1 пассаже	Кабанский р-н БМАССР
7. 2-й исходный	2/IV-27	Из органов водяной крысы		
8. 4-й сухой	июнь 1942	Из воды р. Листвянки	Через биопробу	Юрганский район

Штаммы были выделены в различное время, от различных грызунов и в различных местах.

В 1944 г. Гайский методом аттенуации получил из них вакцинальные туляремийные штаммы. В опытах на лабораторных животных и на людях в туляремийных очагах живая вирус — вакцина Гайского, приготовленная из аттенуированных туляремийных штаммов, показала высокий иммунизаторный эффект. Вакцина из вышеуказанных штаммов нами готовилась на месте прививок — в очаге, согласно существующей инструкции (Н. А. Гайский, Туляремийная вирус-вакцина 1944).

Контроль вакцины осуществлялся путем:

- бактериоскопии;
- ориентировочной реакции агглютинации;
- посева на простой агар, бульон, полужидкий агар.

Переболевшие туляремией в прошлом, не вакцинировались. Перед вакцинацией, выборочно, ставилась аллергическая проба. Положительно реагирующих на введение тулярина, при выборочной постановке аллергической пробы, не обнаружено.

Это обстоятельство дает нам право утверждать, что наша

работа по вакцинации проходила среди здорового населения. Вакцинация однократная, подкожно в плечо. Дозы вакцины: 1, 5, 10, 20, 25 и 50 миллионов микробных тел в 1 см³ по оптическому стандарту ЦГНКИ для микробов кишечной группы. Через 18—21 день после вакцинации ставилась аллергическая проба с тулярином, приготовленным в ВИЭМ е. Тулярин вводился внутрикожно в ладонную поверхность предплечья в дозе 0,1 см³ (что соответствует 10 миллионам микробных тел). Аллергическая реакция отмечалась через 24 и 48 часов. Положительной внутрикожная проба считалась в том случае, когда на месте введения отмечалась отечность, болезненность, сохранившиеся после 48 часов. Инфильтрат, исчезающий через 24 часа после постановки реакции, оценивался как отрицательная аллергическая реакция.

Итак, постановка внутрикожной аллергической пробы с тулярином являлась основным критерием иммунологической эффективности штамма.

Таблица 2

Иммунологическая характеристика отдельных туляремийных штаммов на основании показаний аллергической реакции 2-й сухой VI генерации. Аллергическая проба поставлена на 18-й день после прививок

Доза	Метод вакцинации	Колич-во вакцин-рованных	Колич-во поставл. аллергич. проб	Из них:		% положи-тельных аллергич. реакций
				положи-тельных	отрица-тельных	
1 млн. микробных тел в 1 см ³	Подкожно	23	21	—	21	—
5 » »	»	20	14	—	14	—
10 » »	»	31	23	—	23	—
20 » »	»	72	22	—	22	—
Итого:		146	80	—	80	—

У всех вакцинированных 2-м сухим штаммом VI генерации, независимо от дозы, отсутствовала температурная реакция. Общее состояние после прививок не отличалось от такового до прививок. Местная реакция не проявлялась. Ни покраснений, ни припухлости, ни болезненности на месте укола не наблюдалось. Через 2 суток на месте укола не оставалось никакого следа. Из приведенных данных видно, что 2-й сухой штамм совершенно утратил свои иммуногенные свойства, следовательно не может быть рекомендован для целей профилактической вакцинации.

Таблица 3
14-й сухой VI генерации. Аллергическая проба поставлена на 18 день после прививок

Доза	Метод вакцинации	Колич-во вакцин-рованных	Колич-во поставл. аллергич. проб	Из них:		% положи-тельных аллергич. реакций
				положи-тельных	отрица-тельных	
1 млн. микробных тел в 1 см ³	Подкожно	5	5	2	3	40
5 » »	»	20	18	12	6	77
10 » »	»	45	12	11	1	92
20 » »	»	27	24	22	2	92
Итого:		97	59	47	12	75,25

При вакцинации 14-м штаммом наилучшие результаты получены от доз в 10 и 20 млн. микробных тел в 1 см³. Температура в 39° с ознобом, общей слабостью, увеличением подмышечных лимфатических желез отмечалась в одном случае. Местная реакция в виде покраснения, припухлости и болезненности отмечалась 52% случаев от доз в 1 и 5 млн. в 1 см³ (в 13 случаях из 25); и в 85% обследуемых случаев от доз в 10 и 20 млн. микробных тел в 1 см³ (у 61 из 72). Общее недомогание с ознобом, головной болью и слабостью отмечено у 7 чел. из 97. Продолжалось такое состояние не более двух суток и наблюдалось, как правило, у лиц не занимающихся физическим трудом. К концу первой недели и в начале второй — краснота и припухлость (на месте укола) исчезает. На месте прививки появляется зуд, кожа шелушится.

Таблица 4

15-й бульонный XVII генерации. Аллергическая проба поставлена на 20-й день после вакцинации

Доза	Метод вакцинации	Колич-во вакцин-рованных	Колич-во поставл. аллергич. проб	Из них:		% положи-тельных аллергич. реакций
				положи-тельных	отрица-тельных	
1 млн. микробных тел в 1 см ³	Подкожно	10	10	3	7	30
5 » »	»	12	10	9	1	90
10 » »	»	78	20	17	3	85
20 » »	»	29	22	19	3	86
Итого:		129	62	48	14	72,75

При вакцинации 15-м бульонным туляремийным штаммом наибольший процент положительных аллергических реакций получен от доз в 5, 10, 20 миллионов микробных тел в 1 см³. Лихорадочного состояния на прививку не отмечалось. Местная реакция на прививку в виде покраснения, припухлости места укола и болезненности отмечалась в 60% (у 13 из 22) в дозах 1 и 5 млн. микробных тел в 1 см³ и в 90% случаев в дозах 10 и 20 млн. микробных тел в 1 см³ (у 57 из 107 вакцинированных). При ясно выраженной местной реакции на месте укола остается рубец, исчезающий к концу месяца. Место укола зудит, кожа шелушится.

Таблица 5

19-й сухой VI генерации. Аллергическая реакция поставлена на 21-й день после вакцинации

Доза	Метод вакцинации	Колич-во вакцин-рованных	Колич-во поставл. аллери-ч. проб	Из них:		% положи-тельных аллери-ч. реакций
				положи-тельных	отрица-тельных	
1 млн. микробных тел в 1 см ³	Подкожно	26	23	5	18	21,7
5 » »	»	25	22	13	9	59,3
10 » »	»	7	6	5	1	83,3
20 » »	»	26	12	11	1	91,7
Итого:		84	64	47	17	64

Температурная реакция отмечалась у 20% привитых (у 5 из 20 наблюдаемых). При повышении дозы вакцины до 20 млн. микробных тел в 1 см³ лихорадочная реакция имела место в 40% случаев (у 7 из 18, за которыми велось наблюдение). Тяжелые реакции на прививку с T° выше 39° отсутствовали совершенно. Местная реакция в виде покраснения имела место в 70% случаев в дозах 10 и 20 млн. микробных тел в 1 см³, и выражалась не только в покраснении кожи на месте укола, но и припухлости, отечности и болезненности места укола. Наступала местная реакция обычно на вторые сутки. Общая реакция в виде недомогания, общей слабости, ломоты во всем теле наблюдалась очень редко и проявлялась на третьи сутки. Таким образом, наилучшей вакцинирующей дозой для 19 туляремийного штамма является доза в 20 млн. микробных тел в 1 см³. Малые дозы дают незначительный

процент положительных аллергических реакций, поэтому не могут быть использованы в целях профилактической вакцинации.

Таблица 6

6-й сухой VI генерации. Аллергическая реакция поставлена на 18-й день после вакцинации

Доза вакцинации	Метод вакцинации	Колич-во вакцин-рованных	Колич-во поставл. аллери-ч. проб	Из них:		% положи-тельных аллери-ч. реакций
				положи-тельных	отрица-тельных	
10 млн. микробных тел в 1 см ³	Подкожно	39	31	26	5	83,8
20 » »	»	40	30	25	5	83,03
50 » »	»	32	26	22	4	85
Итого:		111	87	73	14	83,9

При вакцинации 6-м сухим штаммом VI генерации в двух случаях при дозе 50 млн. наблюдалась повышенная температура, доходящая до 39,5°C. В дозах 10 и 20 млн. микробных тел в 1 см³ температурная реакция выше 38°C не отмечалась. Местная реакция на прививку в виде покраснения, припухлости места укола, болезненности, отмечалась на первые и вторые сутки после вакцинации. От дозировки в 10 млн. микробных тел местная реакция отмечалась в 77% (у 17 из 22 находящихся под наблюдением), от дозировки в 20 млн. в 80% (у 12 из 15) и от дозировки в 50 млн. микробных тел в 84,6% (у 11 из 13). Прививки переносились легко. Даже те 2 человека, у которых T° доходила до 39,5° перенесли ее на ногах, правда, они жаловались на головную боль и общее недомогание. К концу третьих суток температура пришла в норму.

При ясно выраженной местной реакции на месте укола кожа шелушится и зудит. Зуд и шелушение кожи наступает как правило к концу недели после вакцинации и указывают, что реакция организма на прививку закончилась.

При вакцинации 3 исходным штаммом местная реакция в виде покраснения, припухлости и болезненности места укола наступала, как правило, на вторые сутки. В дозах 10 млн. она имела место в 75% случаев (у 9 из 12) и в 80% случаев (у 8 из 10) — в дозе 20 млн. В дозе 50 млн. микробных тел местная реакция отмечалась у 10 из 12, то есть в 84%. Тяжелые реакции на прививку с T° выше 38° не отмечались. Прививка переносилась легко.

Таблица 7

3-й исходный. Аллергическая реакция поставлена на 18-й день после вакцинации

Вакцинирующая доза	Метод вакцинации	Колич-во вакцин-рованных	Колич-во поставл. аллери-ч. проб	Из них:		% положи-тельных аллери-ч. реакций
				положи-тельных	отрица-тельных	
10 млн. микробных тел в 1 см ³	Подкожно	41	32	28	4	87,5
20 » »	»	42	32	28	4	87,5
50 » »	»	26	22	20	2	90,9
Итого:		109	86	76	10	88,6

В тех случаях, когда местная реакция была хорошо выражена, на месте укола всегда наблюдалось шелушение кожи и зуд. Обычно эти явления начинались на 6—7-й день после прививок. У некоторых лиц они появлялись на 10-й день. Зуд длится обычно один, два дня, у некоторых до трех суток. Доза в 50 млн. микробных тел в 1 см³ для штамма 3-й исходный явилась наиболее эффективной; от этой дозы получен наибольший процент положительных аллергических реакций и отсутствовала общая реакция на прививку.

Таблица 8

2-й исходный. Аллергическая реакция поставлена на 18-й день после вакцинации

Вакцинирующая доза	Способ вакцинации	Колич-во вакцин-рованных	Колич-во поставл. аллери-ч. проб	Из них:		% положи-тельных аллери-ч. реакций
				положи-тельных	отрица-тельных	
10 млн. микробных тел в 1 см ³	Подкожно	36	31	27	4	87
20 » »	»	38	32	27	5	84,3
25 » »	»	34	22	19	3	86,3
Итого:		108	85	73	12	85,8

При вакцинации 2-м исходным штаммом Т^в в 38,5 отмечена в одном случае, с сильной головной болью, общей разбитостью. Прививка переносилась легко. Местная реакция от различных дозировок выражалась следующим образом:

от дозы в 10 млн. микробных тел в 77% случаях (у 10 из 13 чел., находящихся под наблюдением);
от дозы в 20 млн. микробных тел в 79,4% случаях (у 11 из 14);
от дозы в 25 млн. микробных тел в 87,5% случаях (у 7 из 8).

Наступала местная реакция к концу первых суток. Держалась, как правило, 2—3 суток, затем угасала. Зуд и шелушение кожи на месте укола имеют место.

Таблица 9

4-й сухой. Аллергическая реакция поставлена на 15-й день после вакцинации

Вакцинирующая доза	Способ вакцинации	Колич-во вакцин-рованных	Колич-во поставл. аллери-ч. проб	Из них:		% положи-тельных аллери-ч. реакций
				положи-тельных	отрица-тельных	
10 млн. микробных тел в 1 см ³	Подкожно	31	26	1	25	3,8
20 » »	»	38	30	1	29	3,3
25 » »	»	17	17	3	14	17,6
Итого:		86	73	5	68	8,2

При вакцинации 4-м сухим штаммом независимо от дозы, температурная реакция совершенно отсутствовала. Общее состояние после прививок не отличалось от такового до прививок. Местная реакция на прививку отсутствовала. На месте укола по истечении первых и вторых суток не оставалось никакого следа. Приведенные данные свидетельствуют о полной утрате иммуногенных свойств данного штамма.

Прививки 15-бульонным штаммом переносились легко. Лихорадочной температуры выше 38° не отмечалось. Местная реакция на прививку была хорошо выражена в 75% случаев от дозы в 10 млн. микробных тел (у 6 человек из 8 находящихся под наблюдением); и в 85% случаев от дозы в 50 млн. микробных тел (у 11 чел. из 13). Местная реакция на прививку появлялась к концу первых суток и достигала расцвета на 2—3-м сутки. К концу недели появлялось шелушение кожи и зуд на месте укола.

Нам не удалось отметить значительной разницы в процентах положительных аллергических реакций в зависимости от дозировок.

Таблица 10

15-й бульонный XVII генерации. Аллергическая реакция поставлена на 16-й день после вакцинации

Вакцинирующая доза	Способ вакцинации	Кол-во вакцин-ированных	Кол-во поставл. алл. проб	Из них:		% положи-тельных алл. реакций
				положи-тельных	отрица-тельных	
10 млн. микробных тел в 1 см ³	Подкожно	20	18	15	3	83,4
20 » »	»	64	46	39	7	84,8
50 » »	»	32	27	23	4	85,2
Всего:		116	91	77	14	84,4

Следует отметить, что повторное изучение иммунологических свойств 15-го бульонного штамма на людях через 1 год показало стабильность его иммуногенных качеств.

Проблема аллергии и иммунитета представляет большой интерес. Вопрос о взаимоотношениях между аллергией и иммунитетом различными исследователями рассматривается по-разному. Гамалея, Топли, Вильсон, считают аллергию одной из стадий в развитии иммунитета, степень которого определяется степенью аллергии.

Характеризуя иммунологические свойства штаммов, мы о степени иммунитета судили на основании ясно выраженной аллергической реакции.

В результате проведенной нами работы по иммунологической характеристике различных туляремийных штаммов и установлению наиболее эффективной вакцинирующей их дозы, при подкожном введении, мы пришли к следующим заключениям.

1. Наилучшими иммуногенными штаммами надо признать 15-й бульонный XVII генерации, 19-й сухой VI генерации, 14-й сухой VI генерации, 6-й сухой VI генерации, 3-й исходный, 2-й исходный. При вакцинации этими штаммами получен наибольший процент положительных аллергических реакций.

2. Наиболее эффективными вакцинирующими дозами являются дозы в 10—20 и 50 млн. микробных тел в 1 см³, где процент положительных аллергических реакций приближается к 100.

3. 2-й сухой туляремийный штамм VI генерации и 4-й сухой VI генерации совершенно утратили свои иммуногенные

свойства и не могут быть использованы для целей профилактической вакцинации.

4. Для целей профилактической вакцинации (подкожный метод) можно рекомендовать: 15-й бульонный XVII генерации; 19-й, 14-й, 6-й сухие штаммы VI генерации; 2-й и 3-й исходные в дозировке 10, 20 и 50 млн. микробных тел в 1 см³.

5. Дозировки в 1 и 5 млн. микробных тел в 1 см³ мало эффективны и не могут быть рекомендованы для целей профилактической вакцинации.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Гайский Н. А. и Хижинская О. П. Первые итоги применения живой туляремийной вакцины. Известия Иркутского государственного противочумного института Сибири и Дальнего Востока, том VI, 1946.
2. Затурухина Е. М. и Вурлан Е. А. Лечение туляремии живой вакциной Гайского. Известия Иркутского государственного противочумного института Сибири и Дальнего Востока, том VI, 1946.
3. Гайский Н. А. Аллергия и иммунитет при туляремии. Известия Иркутского государственного противочумного института Сибири и Дальнего Востока, том VI, 1946.
4. Гайский Н. А., Алтарева Н. Д., Линник Т. Г. Скорость наступления и длительность сохранения иммунитета при вакцинации живой туляремийной вакциной, ЖМЭИ № 7, 1947.
5. Машков А. В. Испытание аллергенности и реактивности живой туляремийной вакцины Гайского, ЖМЭИ, № 7, 1947.

Л. А. Смирнова и Л. В. Васюхина.

ВОСПРИИМЧИВОСТЬ ПОЛЕВКИ БРАНДТА К ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТУЛЯРЕМИИ

В работах советских авторов (Гайский и Семенюк, Некипелов и др.) имеются указания на то, что различные виды полевок восприимчивы к туляремии. Так, например, приводятся описания спонтанной туляремии на серых полевках. Кроме того, туляремия в естественных условиях встречается у степной полевки (*Stencranius gregalis* Pall, полевки экономки (*Microtus oeconomus*) и у степной пеструшки (*Lagurus lagurus* Pall).

В естественных условиях туляремия у полевки Брандта не наблюдалась и в литературе нет указаний о восприимчивости этого вида грызуна к экспериментальной туляремии.

В местах своего обитания полевка Брандта, в годы массового размножения, вступает в контакт не только с разными грызунами, но и с человеком, расселяясь в полях и огородах и вокруг жилых строений. Поэтому представляло значительный интерес изучить отношение полевки Брандта к туляремийной инфекции. Для опытов были взяты полевки одного веса, предварительно выдержанные в питомнике не менее месяца. Для заражения полевок был взят вирулентный штамм туляремийного микроба, выращенный на желточной среде, минимальная смертельная доза которого, для белых мышей, равнялась 2 микробам. В наших опытах полевки Брандта заражались тремя способами: подкожным, накожным и скармливанием. В опыте было всего 34 полевки.

Опыт № 1. Заражено 14 полевок подкожно эмульсией из 2-суточной культуры, различной степени концентрации: 5.000.000 микробов, 500.000 микробов, 50.000 микробов.

500 микробов, 50 микробов и 5 микробов в 1 см³ физиологического раствора. Каждой дозой заражено по две полевки.

Результаты опытов следующие: от дозы в 5 миллионов микробов до 5 тысяч микробов, все полевки погибали на седьмой день, от дозы 500 микробов и 50 микробов все полевки пали на восьмые сутки и от дозы 5 микробов обе зараженные полевки пали на девятый день.

При вскрытии павших полевок, во всех случаях они имели острую форму туляремии. В мазках из органов, главным образом из селезенки, а также из крови сердца обнаруживались в большом количестве туляремийные микробы.

Посевы из селезенки и крови сердца на желточной среде через 2—3 дня дали рост туляремийного микроба в виде шегренивого налета по всей поверхности среды.

Опыт № 2. Австрийским методом были заражены 10 полевок. Материалом для заражения служила селезенка белых мышей, павших от того же штамма туляремии на шестые сутки. Погибли все 10 подопытных животных. Срок гибели полевок при этом способе заражения — от 3 до 5 дней.

При патологоанатомическом вскрытии отмечалась картина генерализованного септического процесса. На месте втирания заразного материала было наличие инфильтрата. Паховые железы увеличены, а некоторые подверглись некрозу.

Кровеносные сосуды подкожной клетчатки резко инъецированы. Селезенка увеличена и окрашена в темнобагровый цвет. При бактериологическом исследовании органов и крови получена чистая культура туляремийного микроба.

Опыт № 3. Методом скармливания нами было заражено также 10 полевок. Для скармливания брали органы морской свинки, погибшей от вирулентного штамма туляремийной палочки. Все 10 полевок погибли в срок от 2 до 5 дней. При вскрытии отмечалась та же картина генерализованного острого сепсиса с кровоизлияниями в слизистую желудка и кишечника. Посевы из паренхиматозных органов и крови сердца дали рост туляремийной палочки. Из наших опытов по экспериментальному заражению полевок туляремийным микробом (подкожным, австрийским и методом скармливания) можно сделать заключение, что полевка Брандта весьма восприимчива к туляремийной инфекции, давая острое течение процесса даже при введении малых доз туляремийного инфекта.

ВЫВОДЫ

1. Полевка Брандта в экспериментальных условиях восприимчива к туляремии при подкожном, накожном и энтеральном методах заражения.
2. При заражении полевки Брандта инфекция протекает в остросептической форме.
3. По восприимчивости и течению туляремийной инфекции, этот вид грызуна равноценен белой мыши.

С. В. Митин и В. А. Тирских

ДЕЙСТВИЕ ФИТОНЦИДОВ ЛУКА И ЧЕСНОКА НА ЧУМНУЮ ПАЛОЧКУ

(предварительное сообщение)

Находясь повсюду, микробы тесно соприкасаются с животным или растительным организмами, являясь часто причиной их тяжелых болезней и смерти. Вместе с тем биологами отмечено, что растения реже животных страдают от агрессивности микробов и легче избавляются от них. Подобные наблюдения навели ученых на мысль искать средства защиты против микробов в мире растений.

Русские ученые Манассин и Положебков еще в 1871—1872 г. г. заложили основу современного учения об антибиотиках. Их работы открыли впоследствии широкие перспективы в биологических исследованиях.

В 1928 г. профессор Томского университета Б. П. Токин сообщил, что многие виды растений вырабатывают вещества обладающие антибиотическими свойствами. Эти вещества им были названы «фитонцидами». Эти антибиотики биологического происхождения обладают замечательными свойствами — они чрезвычайно энергично подавляют размножение микроорганизмов, приводя их к гибели и вместе с тем, многие из них, не проявляют заметного вредного действия на ткани животного или растения.

В народной и научной медицине многие виды растений широко используются как лекарственное средство, даже при лечении заразных болезней. Так, например, профессор Б. М. Козо-Полянский отмечает, что чеснок известен с незапамятных времен как лекарственное растение. Во время чумы 1612 г. люди натирались чесноком для защиты от «заразы».

Проф. Токин и его сотрудники исследовали более 400 растений из различных семейств, действуя соками их и парами на микроорганизмы и обнаружили, что все исследованные растения, в той или иной степени, обладали противотоксичными свойствами. Дальнейшие исследования показали, что сок многих растений как в жидком, так и газообразном состоянии, обладает также сильными бактерицидными свойствами. За последние 10 лет найдено несколько тысяч растений, соки и летучие вещества которых, обладают бактерицидными свойствами, причем большинство исследований проделано советскими авторами. Особенно сильное бактерицидное действие на микробы обнаружено у жидких и газообразных фитонцидов чеснока и лука. В настоящее время изучено бактерицидное действие этих фитонцидов на возбудителей фитофторы — болезнь картофеля, дифтерии, амёбной дизентерии и на микробы тифо-дизентерийной группы, на холерный вибрион, на возбудителя газовой гангрены, на вирус оспы, бешенства, туберкулеза и др.

В доступных нам литературных источниках не удалось отыскать сведений, о специальных исследованиях по действию фитонцидов растений на возбудителей особоопасных инфекций, а потому нами было предпринято изучение действия фитонцидов растений на возбудителя чумы.

Приступая к исследованию вопросов о бактерицидном действии фитонцидов растений на чумную палочку, мы не были уверены в получении положительных результатов, поэтому наши первые эксперименты в методическом отношении носят изыскательный характер и результаты их мы не считаем окончательными, дающими право на определенные выводы.

Для изучения бактерицидного действия на палочку чумы, были взяты фитонциды лука (*Allium cepa*) и чеснока (*Allium sativum*).

По литературным данным, особенно резко выраженное бактерицидное действие фитонцидов проявляется соком различных растений и его летучими фракциями. Учитывая это обстоятельство, мы применяли соки и летучие фракции вышеуказанных растений, изучая в различных условиях их действие на чумную палочку. В зависимости от условий постановки все опыты распределяются на несколько серий.

Для приготовления фитонцидов исследуемые растения очищались от сухих листьев и от корней. Очищенные лук и чеснок тщательно измельчались стерильными ножницами и рас-

тирвались пестиком в простерилизованной ступке до получения кашицеобразной массы. Эта каша или выделенный из нее сок, а также и их летучие фракции служили исходным материалом для исследования бактерицидных и бактериостатических свойств этих растений.

Первые опыты заключали в себе наблюдение над действием летучей фракции фитонцидов лука на культуру чумной палочки, находящейся вне питательной среды. С этой целью платиновая петля, заполненная культурой чумной палочки, помещалась над свежеприготовленной кашей лука в закрытой чашке и выдерживалась при этих условиях в течение 15—30 минут, 1, 2, 3 и 4 часов.

По истечении намеченного срока выдержки, культура чумной палочки засеивалась штрихом на агар в чашках. Контролем служило такое же количество культуры чумной палочки, взятое той же платиновой петлей, но не подвергнувшееся действию фитонцидов и засеянное таким же способом. Все посе-вы содержались в термостате при 37°C и наблюдались в течение 5 дней. Результаты учитывались простым сравнением интенсивности роста культуры чумной палочки по штриху на агаре в экспериментальных и контрольных чашках.

При наблюдении за динамикой развития чумной культуры, уже в первые дни инкубации можно было отметить отставание в росте культуры на экспериментальных чашках при сравнении с контрольными. Через 5 дней в контрольных чашках рост культуры чумной палочки наблюдался непрерывной полосой по всем штрихам, нанесенным на поверхность агара, причем первые 3—4 штриха слились в поперечном направлении с соседними штрихами, как это обычно наблюдается при массовых, густых посевах штрихом. В чашках, где выращивалась культура чумной палочки после 15-минутного воздействия фитонцидов лука, почти половина штриха оказалась стерильными (приблизительно 26 из 50).

На тех же штрихах, по следу которых развилась культура чумной палочки, интенсивность ее роста сильно отставала от роста в контрольных посевах.

При более продолжительном (от 30 минут до 2 часов) действии фитонцидов лука на культуру чумной палочки вне питательной среды, описанные явления отмечаются более отчетливо. При 2—3 и 4 часовом действии фитонцидов на чумную палочку посе-вы оставались стерильными в продолжении всего времени нашего наблюдения.

Следующие опыты были поставлены по изучению действия летучей фракции измельченного лука на чумную палочку в момент ее посева газоном на агар. Одна капля густой взвеси культуры чумной палочки (концентрации около 1 млрд. микробов в 1 см³) помещалась на агар в чашке и равномерно тонким слоем распределялась по всей его поверхности. После этого чашка немедленно переворачивалась агаром вверх и ставилась на крышку, на которую предварительно было положено около 1 г кашицы из лука. В таком положении посева оставались в термостате при температуре 37° до следующего дня, когда крышки с кашицей лука были заменены другими стерильными крышками. Наблюдение за интенсивностью роста чумной культуры проводилось 5 дней, в течение которых посева оставались в термостате. Было всего засеяно 30 чашек, из которых две оставлены для контроля, и посева на них не подвергались действию паров лука. В результате этого опыта из 28, экспериментально засеянных чашек, 15 остались стерильными в течение всего срока наблюдения. На агаре в семи чашках наблюдалось развитие микрофлоры воздуха, причем чумной культуры на этих чашках не обнаружено. Эти 7 чашек мы исключаем из опыта при учете общих результатов. На шести экспериментальных чашках, начиная со второго дня наблюдения, отмечено развитие колоний чумной палочки, причем их рост резко отставал от роста колоний на контрольных чашках.

Во второй серии опытов было испытано действие паров различных фитонцидов лука на суточную культуру чумной палочки, предварительно выращенную на агаре в чашках. С этой целью 12 чашек с агаром были засеяны культурой чумной палочки как при первом опыте, методом газона. Через 1 сутки выращивания культуры в термостате при температуре 37°, когда во всех чашках отчетливо наблюдалось достаточно обильное количество развившихся молодых колоний чумной палочки, на крышках чашек раскладывалась свежеприготовленная кашица из лука, и чашки вновь помещались в термостате до следующего дня. Две чашки оставались без кашицы в качестве контрольных. На следующий день, то есть через 16—18 часов крышки с кашицей лука заменялись другими, стерильными и наблюдение за посевами велось в течение последующих 3—4 дней выращивания культуры. Результатами этих опытов было установлено, что выросшая в течение первых суток культура чумной палочки окончательно по-

гибла на 6 чашках из 10. Все попытки в течение последующих 3—4 дней оживить культуру чумной палочки пересевом ее с этих чашек на другие среды (агар с кровью, полужидкий агар, бульон и проч.) оставались безуспешными.

Внешний вид газона чумной культуры на агаре в четырех экспериментальных чашках в течение 4—5 суток наблюдения оставался как бы зафиксированный в стадии роста суточной культуры чумной палочки в форме нежного, едва различимого налета сероватого цвета. При рассматривании через лупу на 4-й день выращивания в термостате на большей части газона колонии чумной палочки имели характерную форму «кружевного платочка», свойственную для молодой, не старше 24-часового возраста культуры. Только сравнительно небольшое количество колоний, разбросанных по всей площади газона к 4-му дню наблюдения имели вид взрослых, вполне сформировавшихся колоний чумной палочки с характерными центром и зернистостью. Пересевы из этих 4 чашек на бульон дали характерный рост чумной культуры. Необходимо все же отметить, что размножение чумной палочки и развитие ее колоний в посевах газоном на последних четырех чашках значительно отставали от роста их на агаре в двух контрольных чашках, где чумная культура пышно развивалась в течение первых двух суток выращивания.

Суммируя результаты описанных двух опытов, следует отметить, что бактерицидные свойства летучей фракции фитонцидов лука, отмеченные в наших опытах проявляются сильнее его бактериостатического свойства, так как гибель чумной палочки наблюдалась в первом опыте на 15 (71,4%) чашках из 21, а во втором опыте на 6 (60%) чашках из 10, на остальных чашках как в первом, так и во втором опыте наблюдалась количественная задержка роста культуры чумной палочки, по сравнению с контрольными.

Для выяснения непосредственного действия сока лука на культуру чумной палочки при посеве ее на среды было проделано два опыта: на одну чашку с агаром, немедленно после посева газоном чумной культуры, наносилась капля луковичного сока, и оставляли ее неподвижной, на другую чашку так же наносилась капля, которой давали стекать по наклонной плоскости агара, образуя дорожку по середине газона, засеянного культурой. Третья чашка с засеянным агаром оставалась для контроля и не подвергалась действию сока лука. Все чашки помещались в термостате при 37° и просмо-

тривались ежедневно в течение 4—5 дней. Через сутки инкубации было отмечено появление первых признаков роста чумной культуры, а через двое суток уже отчетливо можно было наблюдать стерильную поверхность агара в центре капли на первой чашке и стерильную полоску на поверхности агара, по пути стекания капли луковичного сока во второй чашке. В дальнейшем при ежедневном рассматривании с помощью лупы характера роста чумной культуры, можно было отчетливо наблюдать результат бактерицидного и бактериостатического действия сока лука на чумную палочку. Площади агара, занятые каплей и дорожкой от луковичного сока, продолжали оставаться стерильными в течение всего срока наблюдения. В то же время по периферии стерильной части агара, на расстоянии 5 мм от центра ее, начиная с 3-го дня инкубации появились признаки роста чумной культуры в виде мелких изолированных колоний. Количество изолированных колоний чумной палочки увеличивалось по мере удаления от стерильного центра и на расстоянии полтора — два сантиметра от него, картина роста ничем не отличалась по внешнему виду от картины роста чумной культуры на агаре в контрольной чашке.

Из результатов этих опытов возникло предположение, что сок лука, при непосредственном действии на чумную палочку в момент ее посева на агар — проявляет сильное бактерицидное действие, которое по мере снижения концентрации луковичного сока, переходит в бактериостатическое.

Чтобы подтвердить возникшее предположение, мы изучили действие различных концентраций луковичного сока на чумную палочку в жидкой среде, как в момент посева, так и после суточного выращивания. В пять пробирок был налит МП бульон в количестве постепенно возрастающем, начиная от 1 см³ до 5 см³. В каждую пробирку с бульоном добавлялось по 0,2 см³ луковичного сока, таким образом разведение его получалось приблизительно 1/5, 1/10, 1/15, 1/20 и 1/25. Одновременно с прибавлением сока к бульону, в каждую пробирку засеивалась одна петля культуры чумной палочки, и пробирки помещались в термостат при 37° на весь срок наблюдения (5 дней). Контролем служили пробирки с соответствующим количеством засеянного бульона, но без луковичного сока. Ежедневно из каждой пробирки делались высевы на чашку с агаром. Из 25 пробирок на 6 (24%) выросла чумная культура, и 19 (76%) пробирок остались стерильными. В

контрольных пробирках, через 24 часа инкубации в термостате отмечен отчетливый рост чумной культуры. 6 экспериментальных пробирок, давших специфический рост чумной культуры содержали разведение луковичного сока 1/20 1/25 по отношению к бульону, причем первые признаки роста через 24 часа инкубации появились в пробирках с разведением фитонцида 1/25 и через 48 часов — в пробирках с разведением 1/20. Таким образом результаты опытов на жидких средах подтвердили по отношению к чумной палочке наличие бактерицидных свойств фитонцидов лука при больших концентрациях и бактериостатических свойств — при малых концентрациях их в среде.

Мы исследовали действие фитонцидов лука в жидких средах и на суточную бульонную культуру чумной палочки. Бульон в пробирках разливался в тех же количествах, как описано в предыдущем опыте, только вместо луковичного сока к суточной бульонной культуре чумной палочки добавлялась кашка лука в количестве около 0,2—0,3 г в каждую пробирку. Контролем служил посев культуры чумной палочки на тот же бульон, но без добавления луковичной кашицы. В течение пятидневного периода наблюдения все пробирки находились в термостате при 37° и ежедневно из них делался высев на агар в чашках. Ни в одном случае высева на агар в чашках нам не удалось получить рост чумной палочки — она оказалась погибшей во всех пробирках с бульоном в первые же сутки после прибавления кашицы лука, в контрольных же пробирках с бульоном, без луковичной кашицы, чумная культура развивалась нормально.

Интересно отметить, что в окрашенных по Грамму мазках, сделанных из бульона, подвергнувшегося действию фитонцидов лука, нам не удалось при микроскопии обнаружить биполяров. В поле зрения наблюдался окрашенный детритоподобный осадок при полном отсутствии морфологически оформленных микробов. Это наблюдение дает возможность предположить, что механизм действия фитонцидов лука на чумную палочку аналогичен действию их на простейших, фитотфору картофеля и на туберкулезный штамм БЦЖ. По данным А. Коваленко, З. Борзова и Г. Е. Неболюбова перечисленные микроорганизмы претерпевают целый ряд изменений в процессе гибели от действия на них фитонцидами. У подвижных форм прежде всего исчезает способность движения, а неподвижные формы как бы внезапно фиксируются.

Микробная клетка кажется набухшей, ее морфологический вид изменяется, повидимому, благодаря изменению в структуре протоплазмы — при окраске наблюдается ясно выраженная зернистость, появление светлых, неокрашенных участков, подобных пустым пространством, в дальнейшем отмечается разрушение клеточной оболочки и окончательный зернистый распад клеток. Нам не удалось наблюдать всех стадий изменения чумной палочки в процессе отмирания ее под действием фитонцидов лука, но отсутствие в окрашенных мазках морфологически оформленных типичных биглоляров суточной бульонной культуры и наличие детритообразного окрашенного осадка возможно является результатом вышеописанных изменений.

После установления бактериостатического и бактерицидного действия фитонцидов лука на чумную палочку, представляло интерес выяснить — как быстро погибает чумная палочка под действием фитонцидов. С этой целью были поставлены опыты кратковременного воздействия фитонцидов лука на чумную палочку. Культура чумной палочки, засеянная методом газона на агар в чашках помещалась в термостат при 37°, где подвергалась действию паров фитонцидов лука в течение 5, 15, 30 минут, 1, 2, 3 и 4 часов. Затем луковая кашница удалялась, и чашки оставались под наблюдением 5 дней в термостате. Результаты развития чумной культуры на агаре отмечались ежедневно. Контролем служила культура, посеянная на чашку, но не подвергавшаяся действию фитонцидов. В конце срока наблюдения, то есть на 5-й день с момента посева, на чашке с 5-минутным действием фитонцидов лука характер роста чумной палочки был одинаков с контрольной и имел вид сплошного налета, покрывшего всю поверхность агара.

Иная картина наблюдалась на чашках, подвергавшихся действию фитонцидов 15, 30 минут, 1 и 2 часа. Чумные колонии развивались на этих чашках изолированно, не сливаясь друг с другом, причем отчетливо различалась разница в количестве колоний, уменьшающаяся в зависимости от продолжительности действия паров лука. Чашки с 3 и 4-часовым действием лука остались стерильными в течение всего срока наблюдения.

Из результатов описанных опытов можно заключить, что фитонциды лука проявляли бактериостатическое действие на

чумную палочку в сроки до 2 часов, при более продолжительных сроках бактериостатическое действие переходит в бактерицидное.

Для окончательных выводов необходимо большее количество наблюдений.

Последним этапом изучения свойств фитонцидов было исследование их способности диффундировать в твердых питательных средах. С этой целью мы заливали в чашках свежеприготовленную кашницу лука расплавленным и охлажденным до 40—45° агаром. В этих опытах мы не получили эффективного бактериостатического или бактерицидного действия фитонцидов. Посеянная культура чумной палочки развивалась на вторые сутки содержания в термостате при 37° абсолютно одинаково, как на экспериментальном, так и на контрольном (без кашницы) агаре. Таким образом у фитонцидов лука нам не удалось установить диффундирующих свойств или неблагоприятного для роста культуры изменения ими среды.

Кроме фитонцидов лука мы исследовали по вышеописанной методике действие фитонцидов чеснока — на палочку чумы. Результаты этого исследования приводим ниже.

Действие летучих фитонцидов чеснока в момент посева культуры чумной палочки показало, что из 25 чашек остались стерильными 20, дали специфический рост культуры 5 чашек.

При воздействии на суточную агаровую культуру — из 10 чашек остались стерильными 7 и 3 дали специфический рост.

Непосредственное действие соков чеснока по методу капли и дорожки на газон посеянной культуры дало результаты, аналогичные описанному выше действию фитонцидов лука на чумную палочку.

Действие чесночного сока, добавленного в момент посева в разведениях от 1/5 до 1/25 на бульонную культуру чумной палочки дало следующее: из 19 пробирок в 14 чумная палочка оказалась погибшей, высевы из 5 дали специфический рост чумной культуры, среди которых, в четырех разведение чесночного сока было 1/25 и в одной — 1/20. В опыте действия чеснока на суточную культуру — в 15 экспериментальных пробирках, при контрольных посевах из них, все оказались стерильными.

При определении скорости гибели чумной палочки от действия фитонцидов чеснока, как на агаре, так и вне его, непосредственно в чистой культуре на платиновой петле, полу-

ченые результаты мало отличаются от таковых при исследовании действия фитонцидов лука: полная гибель культуры чумной палочки наступала между двумя и тремя часами действия парообразных фитонцидов чеснока.

Наконец, у фитонцидов чеснока нами не установлена ясно выраженная способность диффундировать через твердый агар, или изменять его качество задерживая рост культуры.

В заключение следует отметить, что экспериментальное исследование действия фитонцидов лука и чеснока проделанное нами, не позволяет сделать окончательных выводов, но открывает перспективу для дальнейшего экспериментального изучения действия этих фитонцидов на возбудителей особо-опасных инфекций.

А. Ф. Пинигин

К ВОПРОСУ ИЗМЕНЧИВОСТИ ГРУППЫ BRUCELLA В ПРОЦЕССЕ ИХ ХРАНЕНИЯ В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

Дифференциация бруцелл имеет громадное эпидемиологическое и эпизоотологическое значение как для выяснения источников инфекции и резервуаров ее, так и с точки зрения возможности миграции типов *Brucella* от одного вида животного к другому. Отсюда становится ясным значение применяемых методов и стабильности тех признаков, по которым дифференцируются типы бруцелл.

Из разнообразных методов дифференциации в настоящее время наиболее достоверным является комплексный метод Хеддльсона, то есть классификация по бактериостатическому и сероводородному признаку, а при изучении вновь выделенных культур так же учитывается и их отношение к CO_2 .

Однако вышеуказанный метод не всегда позволяет с достоверностью дифференцировать бруцелл по их типам. Часть штаммов не дифференцируется по методу Хеддльсона непосредственно сразу после их выделения, что зависит от особенностей их первичного происхождения, другие вследствие их вторичных отклонений, связанных с вторичным изменением культур в виде диссоциации. Как известно, последняя является одной из форм изменчивости микроорганизмов, появляющихся в процессе приспособления их к данным условиям существования и не связана, как это установлено теперь, вопреки неправильному взгляду циклогенистов на диссоциацию с изменениями внешнего вида и формы колонии.

Ряд авторов склонны считать, что явления диссоциации не отражаются на поведении культур при дифференциации их по методу Хеддльсона.

Другие же, наоборот, устанавливают, что наибольшее количество атипично ведущих себя штаммов падает на группу диссоциирующих. Так, Журнакова (1935) описала 20 культур *Bg. abortus*, которые по бактериостатическому методу вели себя как *Bg. melitensis*, причем 12 из них обнаружили признаки диссоциации.

Первушин Б. П. (1941), изучая сероводородообразование в культурах бруцелл, указывает, что старые музейные штаммы в процессе хранения могут приобретать и утрачивать способность образования сероводорода. Он же указывает на возможность изменения бактериостатического признака. Так, в его опыте 2 штамма *Bg. suis* «приобрели способность расти на средах с фуксином, причем один проявил при этом и признаки диссоциации». П. А. Вершилова указывает, что метод Хеддльсона «в 8% не дает возможности правильно дифференцировать изучаемые культуры, обнаруживая аномалии их поведения к краскам и сероводородному признаку». Атипичное поведение культур она ставит в зависимость и от диссоциации.

Таким образом, из литературных данных видно, что среди бруцелл довольно часто встречаются атипичные штаммы, причем эти аномалии большей частью связаны с диссоциацией культур, появившихся в процессе хранения бруцелл на искусственных питательных средах.

Целью нашей работы было изучение музейных бруцеллезных штаммов и установление наличия стабильности или изменения первоначальных признаков, полученных при первичном изучении культур. Для изучения нами брались бруцеллезные музейные культуры различных типов, давности и происхождения.

МЕТОДИКА И СОБСТВЕННЫЕ НАБЛЮДЕНИЯ

1. Дифференциация по образованию сероводорода

При дифференциации по образованию сероводорода в качестве питательной среды применялся печеночный агар Хеддльсона pH-6,6 на скошенную поверхность которого засеивалась одна стандартная 2 мм петля 48-часовой одномиллиардной взвеси агаровой культуры в физиологическом растворе. Реактивом на сероводород служила фильтровальная бумага,

пропитанная насыщенным раствором уксусно-кислого свинца, размером 1x8 см, предварительно высушенная на воздухе. После равномерного засева испытуемой культуры, свинцовая бумажка закреплялась между стенкой пробирки и пробкой с противоположной стороны среды на уровне ее верхнего края.

Для избежания накопления углекислого газа в пробирке применялась П-образная трубка, открытая с обеих концов и закрепленная так же, как свинцовая бумажка. Засеянные и смонтированные пробирки помещались в термостат при 37°. Способность выделения сероводорода устанавливалась по побурению или почернению края свинцовой бумажки параллельно с регистрацией интенсивности роста культуры в течение 10—15 и более суток и с ежедневной заменой старых свинцовых бумажек новыми.

2. Дифференциация по устойчивости к анилиновым краскам

Испытание бактериостатического действия красок на рост бруцелл производилось на печеночном агаре, приготовленном по прописи Хеддльсона pH-6,6 с добавлением 0,5% водного раствора красок (фуксин, тионин), из такого расчета чтобы получить соответствующее отношение краски к агару (1:25000, 1:20000 и 1:10000). Чашки с застывшим агаром подсушивались и делились на 4 сегмента.

На каждый сегмент засеивалась 1 стандартная 2 м/м петля взвеси 2-суточной агаровой культуры в физиологическом растворе. Параллельно ставился контроль испытуемых штаммов путем их засева на тот же агар, но без добавления красок.

Для сравнения и проверки правильности результатов исследования в каждую чашку на один из сегментов засеивался эталонный бруцеллезный штамм.

Засеянные чашки помещались в термостат при $T^{\circ} 37^{\circ}$ и результаты регистрировались через каждые 24 часа в течение 3 суток.

По данной методике нами было изучено 34 бруцеллезных штамма, долгое время хранившихся на искусственных питательных средах.

Эпидемиологическая характеристика указанных культур дана в таблице 1.

Таблица 1
Эпидемиологическая характеристика изучаемых культур

От кого выделена	Br. melitensis	Br. abortus bovis	Br. suis
Человека	5	1	—
Овцы	13	—	—
Коровы	—	7	—
Свиньи	—	—	2
Неизвестного происхождения	1	2	3

По имеющимся у нас не полным данным результаты ранее проведенной дифференциации не противоречат их эпидемиологической характеристике и полностью укладываются в дифференциальных тестах Хеддльсога.

При повторном изучении штаммов через 1—8—17 лет хранения на искусственных питательных средах нами установлены некоторые отклонения от этих признаков. Так, в результате дифференциации мы получили следующее:

Таблица 2
Результаты дифференциации бруцеллезных культур по сероводородному и бактериологическому методам

№№ шт.	Штаммы	Количество штаммов	Дифференциация						
			По H ₂ S			По бактериостатическому методу			
			+++	+	±	—	Br. melitensis	Br. abortus	Br. suis
1.	Br. melitensis	19	—	2	15	2	14	5	—
2.	Br. abortus bovis	10	4	1	4	1	7	2	1
3.	Br. abortus suis	5	2	—	3	—	5	—	—

Примечание: +++, ++, +, ±, — обозначение интенсивности образования H₂S.

Из таблицы видно, что из 19 штаммов Br. melitensis по сероводородному признаку 17 культур ведут себя типично для данной группы и 2 штамма атипично, давая почернения реактивной бумажки на 1—2 мм.

По бактериостатическому методу 14 культур ведут себя соответственно своему типу (рост на средах с фуксином и тионином), а 5 штаммов как Br. abortus bovis (нет роста на средах с тионином).

В группе Br. abortus bovis из 10 изученных штаммов по сероводородообразованию 5 культур оказались типичными для группы Br. abortus, а 5 вели себя атипично.

По отношению к краскам два штамма вели себя типично для данной группы (рост на средах с фуксином и тионином), один как Br. suis (не растет на средах с фуксином) и 7 культур как Br. melitensis (рост на всех средах).

Из 5 культур Br. suis по продукции сероводорода две вели себя типично для данной группы и 3 атипично. По краскам все 5 штаммов как Br. melitensis росли на средах с фуксином и тионином.

Итак, из 34 изученных бруцеллезных культур мы имеем 17 случаев или 50% расхождения с типом при дифференциации их по бактериостатическому методу. По сероводородообразованию атипично ведущих себя штаммов оказалось 10, то есть 29,4%.

С целью выяснения причин столь значительных отклонений от типа, нами было проведено изучение всех атипично ведущих себя штаммов на наличие явлений диссоциации.

Изучение проводилось по следующей схеме:

1. Постановка феномена термопреципитации.
2. Неспецифическая реакция агглютинации с трипфлавином (1:500).
3. Агглютинабельность со специфической бруцеллезной сывороткой. Наши исследования атипично ведущих себя штаммов дали следующие результаты.

1. Атипичные штаммы Br. melitensis

В эту группу вошло 6 культур, выделенные от овец, из них: 5 штаммов не росли на среде с тионином. По сероводородообразованию 2 культуры из 6 дали почернение края свицовой бумажки на 1—2 мм (+) (Одна из этих культур вела себя атипично и по краскам и по сероводороду). Результаты изучения этой группы даны в таблице 3.

Таблица 3.

Результаты изучения атипичных штаммов группы *Br. melitensis*

№№ культуры	Возраст культуры в годах	Агглютинабельность			Со специфической брутцеллезной сывороткой	Дифференциация				
		Термоагглютинация	С трипофлавином	По H ₂ S		По бактериостатическому методу				
				1942 г.		1949 г.	Фуксин	Тионин	Фуксин	Тионин
1	8	—	+	Сохранена	—	±	+	+	+	—
4	8	—	+	»	—	—	+	+	+	—
5	8	—	+	»	—	—	+	+	+	—
9	7	—	—	»	—	+	+	+	+	+
14	7	—	+	»	—	±	+	+	+	—
74	16	—	—	»	—	+	—	—	—	—

Из таблицы видно, что все указанные культуры имеют значительную давность хранения (от 7 до 16 лет), причем 4 штамма из 6 дали положительную трипофлавиновую агглютинацию и только два (74 и 9) в наших опытах не обнаружили признаков диссоциации.

Следует отметить, что 4 штамма (№ 1, 4, 5, 14) в 1942 г. вели себя типично, как *Br. melitensis* (рост на средах с фуксином и тионином, H₂S не продуцировали), то есть в данном случае мы имеем дело со штаммами, которые в процессе хранения в лаборатории утратили свои первоначальные признаки. Все они перестали расти на средах с тионином, а *Br. melitensis* № 74 и 9, приобрели способность продуцировать сероводород, кроме того 74 штам утратил способность роста на средах с тионином. Однако признаков диссоциации ни у того ни у другого штамма нам обнаружить не удалось. Поэтому утверждать, что всякое отклонение от типовых признаков является только следствием диссоциации, мы не можем.

2. Атипичные штаммы *Br. abortus bovis*

В эту группу вошли 8 культур, которые вели себя атипично по отношению к краскам, а одна из них и по сероводородному признаку.

Данные изучения этой группы представлены в таблице 4.

Таблица 4

Результаты изучения атипичных штаммов группы *Br. abortus bovis*

№№ штаммов	От кого выделен	Давность выделенных штаммов (в годах)	Агглютинация			Дифференциация		
			Термоагглютинац.	С трипофлавином	Со специфич. брутц. сыворотк.	По отношению к краскам		
						По H ₂ S	Фуксин	Тионин
21	Человека	4	—	—	Агглютинабельны	—	+	+
46	Коровы	1	—	—	»	±	+	+
91	»	1	—	±	»	±	+	+
424	»	3	—	—	»	±	+	+
793	»	16	—	—	»	+	+	+
1410	»	16	—	—	»	+	+	+
4004	»	Нет сведен.	—	+	»	+	+	+
4004	»	14	—	+	»	+	+	+

«Омский»

Из таблицы видно, что все изучаемые культуры имеют от 1 до 16 лет хранения. Две культуры № 4004 и 4004 «Омский» дали четко выраженную реакцию с трипофлавином и одна № 91 неполную, медленно наступающую.

Таким образом 3 культуры *Br. abortus* из 8 атипичных по Хеддльсону № 91, 4004 и 4004 «Омский» оказались диссоциированными и 5 культур (№№ 21, 46, 424, 793 и 1410) не обнаружили признаков диссоциации.

Можно предположить, что 3 штамма *Br. abortus* № 91, 4004 и 4004 «Омский» ведут себя атипично вследствие диссоциации, чего нельзя сказать в отношении штаммов № 21, 46, 424, 793 и 1410, так как они дали отрицательную реакцию с трипофлавином.

3. Атипичные штаммы *Br. abortus suis*

В эту группу вошли 5 атипично ведущих себя штаммов.

Результаты изучения этой группы представлены в таблице 5.

Таблица 5
Результаты изучения атипичных штаммов Br. suis

№ штаммов	От кого выделен штамм	Откуда получен	Возраст культуры в годах	Агглютинация			Дифференциация		
				Термоагглютинац.	С трипофлавином	Со специфической бруцелл. сыворотк.	По отношению к краскам	По H ₂ S	Фуксин
1	Свиньи	—	17	—	+	Агглютина- бельность сохранена	±	+	+
22	Свиньи	Франция Новосибирск	15	—	—	»	±±	+	+
39			14	—	+	»	±±	+	+
39/18			14	—	+	»	+	+	+
320			17	—	+	»	+	+	+

Из таблицы видно, что срок лабораторного хранения культур равен 14—17 годам. Среди них 3 штамма № 1, 39 и 39/18 дали положительную агглютинацию с трипофлавином. Таким образом культуры № 1, 39 и 39/18 оказались диссоциированными и две культуры № 22 и 320 не проявили признаков диссоциации.

Штаммы 39/18 и 320 сохранили свою способность образования сероводорода, а культуры № 1, 22 и 39 дали отрицательные результаты.

По бактериостатическому методу все 5 штаммов вели себя нетипично для группы Br. suis.

Следует отметить, что все вышеперечисленные культуры были получены нами из разных мест и дифференцировались как типичные штаммы типа Br. suis. Отсюда вытекает, что обнаруженные изменения являются вторичными, причем у трех из них Br. suis 1,39 и 39/18 они связаны с процессом изменчивости. Что касается двух последних культур № 22 и 320, то несмотря на их 15—17-летний срок хранения, изменения их свойств по сероводородообразованию и бактериостатическому признаку нельзя отнести за счет явлений диссоциации.

В итоге изучения 34 бруцеллезных штаммов всех 3 типов нами было обнаружено 19 атипично ведущих себя культур, то есть не дифференцирующихся по схеме Хеддльсона.

70

При дальнейшем изучении было установлено, что 10 штаммов из 19 имеют выраженные признаки диссоциации (положительная проба с трипофлавином).

На основании вышеизложенного можно предположить, что в процессе хранения культур на искусственных питательных средах они могут быть в значительной степени подвержены вторичным изменениям типовых свойств (отношение к тионину, фуксину и способность сероводородообразования).

В свою очередь, вторичные изменения могут быть результатом диссоциации.

В наших опытах вторичные изменения в 52,6% случаев являются результатом диссоциации, что находится в полном соответствии с результатами, полученными П. А. Вершиловой.

В заключение следует отметить, что нетипично ведущие себя культуры не всегда проявляют признаки диссоциации (в наших опытах в 47,4%), и наоборот, наличие диссоциации не является показателем атипичности данного штамма. Так, из 15 культур сохранивших в процессе хранения свои свойства по признаку сероводородообразования и отношения к краскам, 6 штаммов дали положительную трипофлавиновую агглютинацию, то есть обнаружили признаки диссоциации.

ВЫВОДЫ

1. В процессе длительного (1—17 лет) хранения на мясopеченочном агаре при температуре ледника бруцеллезные штаммы независимо от их типовой принадлежности в значительной мере подвержены вторичным изменениям своих признаков.

2. Атипичное поведение культур *Brucella* всех трех типов может быть результатом вторичного изменения типовых свойств порядка диссоциации (по нашим наблюдениям в 52,6%).

3. У атипично ведущих себя штаммов не всегда удается установить явления диссоциации (в наших опытах в 47,4%).

4. Процесс диссоциации не обязательно сопровождается изменением сероводородного и бактериостатического признака.

71

ЛИТЕРАТУРА.

1. П. А. Вершилова. Значение диссоциации для дифференциации группы *Bruceella* Архив биологических наук, том 53, вып. 1, стр. 47—56., 1939.
2. М. А. Журнакова. Дифференциальная диагностика различных вариантов группы. Бруцеллез сельскохозяйственных животных, под редакцией Гинзбурга (1935), стр. 5—11.
3. П. Ф. Здродовский. Важнейшие направления в современном учении о бруцеллезе. ЖМЭИ № 8, 1949, стр. 8—16.
4. Л. Н. Липатов. О дифференциации бактерии из группы бруцелл. ЖМЭИ № 1, том XVI, вып. 4, стр. 510—517.
5. Первушин. Сероводородообразование в культурах бруцелл. ЖМЭИ № 12, за 1941 г., стр. 61—67.
6. И. Тарасов и Х. Котлярова. К характеристике культур бруцелл, выделенных экспедицией ВИЭМ в подопытном овцесовхозе. Бруцеллез. Труды экспедиции ВИЭМ (1933—1936), под редакцией проф. Здродовского.

В. С. Михно

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ АДСОРБЦИИ БАКТЕРИОФАГА ДРОЖЖЕВЫМИ КЛЕТКАМИ

Явление адсорбции (физической) было открыто более 150 лет назад и впервые описано Шееле в 1773 г., где автор наблюдал адсорбцию газов на древесном угле.

Цветом М. С. (1903) в работе с хлорофильными пигментами было испытано более ста различных адсорбентов. В качестве последних автор испытывал животный и растительный уголь, минеральные адсорбенты (гидрогель, кри́мнезем, каолин, песок, и ряд других материалов — бумагу, шерсть, углеводы и т. д.).

Автор при изучении отметил, что явления адсорбции зависят от всего физикохимического комплекса адсорбента и адсорбирующего вещества.

С развитием микробиологии возникла новая наука — вирусология, при изучении которой метод неспецифической адсорбции нашел также большое применение. Кроме того, адсорбиционный метод применяется для очистки антигенов. Из более ранних работ, посвященных адсорбции вирусов, можно отметить работы Крауса (1909), Бедсона (1926—1936), Одируа, Сукнева, Мирецкой, Кучина, Товарницкого, Чалкина, Рыжкова, Овчаровой и др.

Авторы, занимающиеся адсорбцией вирусов и бактериофага, подвергали изучению самые разнообразные ультравирусы (вирус бешенства, ящура, кори, гриппа и т. д.).

В качестве адсорбентов были испытаны не только неорганические, но и органические вещества (животный уголь, гидроксиды металлов, каолин, инфузорная земля, тальк, глин, кармин, норит, белки, 1% коллоидальный холестерин), эле-

менты крови (эритроциты крови животных и эритроциты куриного эмбриона) и микробные клетки (брюшнотифозной культуры, кишечной палочки, культуры стафилококка, дрожжей, сарцины и протей Х¹⁹).

Все испытанные адсорбенты в той или иной степени обладали адсорбирующим действием на различные вирусы и бактериофаг.

При изучении адсорбции бактериофага некоторые авторы отмечают, что в степени адсорбции бактериофага имеется какая-то специфичность, то есть бактериофаг в большой степени адсорбируется убитыми бактериями гомологичными к фагу (Рыжков, Овчарова). В литературных данных имеются различные указания о влиянии рН среды на степень адсорбции. Одни авторы утверждают, что адсорбция происходит лучше в кислых средах, чем в щелочных, — другие этой разницы не наблюдают.

Явление элюции вирусов лучше происходит в щелочной среде (рН—6,9 — 8,4—9,0) и слабо выражено в кислой (Товарницкий, Крисс и др.).

Кроме того, Товарницкий рекомендует при изучении адсорбции употреблять малые дозы адсорбента, так как при больших дозах адсорбента получается необратимая адсорбция, то есть вирус не может быть элюирован из адсорбента. В качестве элюата автор употреблял аммиак, в слабых и концентрированных растворах, этиловый спирт в смеси с сернистым эфиром, физиологический раствор.

Вопрос об адсорбции вирусов живыми клетками был впервые выдвинут Зильбером и Ваструховой (1933). Изучение адсорбции вирусов и бактериофага в основном проводилось неорганическими и органическими веществами. В меньшей степени явление адсорбции изучалось на живых и убитых микробных клетках.

В литературе вопрос об адсорбции чумного бактериофага дрожжевыми клетками до сего времени не был освещен.

В настоящей работе мы поставили себе задачей испытать адсорбционные свойства дрожжевой культуры в отношении чумного бактериофага с возможным последующим использованием данного адсорбента в целях адсорбции чумного бактериофага из суспензии органов грызунов чумоносителей и фагированных культур *V. Pestis* в природе. Для изучения адсорбционных свойств дрожжей были взяты чумной бактерио-

фаг Д'Эрелля, Осалинкера, Михалевой и Берлина с исходным титром 10^{-8} — 10^{-10} .

Питательные среды в опыт были взяты: бульон Хоттингера рН — 7,0—7,2 и параллельно бульон Хоттингера с содержанием 1% глюкозы, так как дрожжевая культура лучше активируется в средах с сахаром.

С целью изучения возможности адсорбции чумного бактериофага бактериальными фильтрами, был поставлен предварительный опыт. Чумной бактериофаг с исходным титром 10^{-7} — 10^{-9} фильтровался через различные фильтры (тальковый, мембранный, фильтр Зейтца и др.).

В результате этого опыта выяснилось, что асбестовые фильтры Зейтца и фильтры, изготовленные из талька адсорбируют чумной бактериофаг полностью.

Опыт с мембранным фильтром был поставлен только один (в виду малого количества фильтровальных пластинок).

При постановке опыта с мембранным фильтром, одновременно испытывалась степень адсорбции чумного фага мембранным фильтром и степень адсорбции чумного фага дрожжевой культурой. В результате опытов выяснилось, что мембранный фильтр не адсорбирует чумной бактериофаг, то есть до и после фильтрации чумной фаг сохранил свой исходный титр (10^{-8} — 10^{-9}).

Адсорбция чумного фага дрожжевыми клетками в такой постановке опыта так же не наблюдалась, так как титр в фильтрате оставался равным исходному (10^{-8}). В виду этого опыт стал проводиться в другом направлении.

Односуточная бульонная культура дрожжей в объеме $0,4 \text{ см}^3$ высевалась на бульоне Хоттингера рН — 7,2—7,25 куда добавлялся чумной бактериофаг в количестве $0,2 \text{ см}^3$ с титром 10^{-8} — 10^{-10} . Посевы помещались в термостат при температуре 28° на 24 часа.

После 24-часового пребывания, часть посевной эмульсии титровалась, а часть центрифугировалась при 1700 оборотах в 1 минуту в электрической центрифуге, в течение 5 минут. Слой бульона отсасывался от осадка дрожжей и титровался вновь. Осадок дрожжей промывался свежей порцией бульона и вновь центрифугировался. Таким образом дрожжевая культура свежей порцией бульона промывалась 4—5 раз. Каждая новая порция бульона титровалась. Изменение титра в бульоне, которым элюировался чумной бактериофаг, можно видеть из данных таблицы 1.

Таблица 1

Снижение титра в элюате

№№ пп.	Наименование фага и культуры взятых в опыт	Исходный титр фага	Титр через 24 часа	Титр после центрифугирования основного посева	Титр фага в элюате				
					I порция	II порция	III порция	IV порция	V порция
1.	Дрожжевая культура + фаг Михалевой.	10^{-8}	10^{-9}	—	10^{-9}	10^{-8}	10^{-7}	—	10^{-3}
2.	Дрожжевая культура + фаг Михалевой	10^{-8}	10^{-7}	—	10^{-6}	10^{-5}	10^{-2}	—	10^{-0}
3.	Дрожжевая культура + фаг Д'Эрелля	10^{-9}	10^{-9}	10^{-9}	10^{-6}	10^{-3}	—	10^{-2}	—
4.	Дрожжевая культура + фаг Осалинкера	10^{-10}	10^{-10}	10^{-10}	10^{-8}	10^{-6}	—	—	10^{-3}
5.	Контроль бактериофага	10^{-10}	10^{-10}	10^{-10}	—	—	—	—	—

Примечание: Минус обозначает, что данная порция элюата не титровалась.

Достаточно было промыть дрожжи 4—5 раз свежей порцией бульона, как в последней порции элюата титр чумного бактериофага падал до 10^{-2} — 10^{-9} . После последнего элюирования осадок дрожжей высевался на чашку с агаром, содержащим 1% глюкозы. Посев помещался в термостат на 20 часов при температуре 28°. В развивающейся культуре дрожжей испытывалось наличие чумного бактериофага путем действия на культуру *V. Pestis 50/74*. Контроль дал отрицательный результат, то есть лизис культуры *V. Pestis 50/74* — отсутствовал.

Этот опыт также подтверждает, что дрожжевая культура не является адсорбентом чумного бактериофага в тех условиях, в которых проводился опыт.

В процессе проведения опытов мною было выявлено, что при посеве дрожжевой культуры с чумным бактериофагом (Михалевой, Д'Эрелля, Осалинкера и Берлина) имеющих исходный титр 10^{-8} — 10^{-10} в бульоне содержащим 1% глюкозы, наступает снижение титра чумного бактериофага быстрее (с 10^{-10} до 10^{-2} в сроке от 24 часов до 7 месяцев), чем это происходит в обычном бульоне Хоттингера (в тот же срок от 24 часов до 7 месяцев титр снижается с 10^{-10} только до 10^{-6}).

Контроль бактериофага в те же сроки на обычном бульоне Хоттингера дал снижение титра в пределах с 10^{-10} до 10^{-5} .

Для проверки вышеуказанного явления поставлен был следующий опыт. Чумной бактериофаг пассировался на бульоне Хоттингера с глюкозой и обычном бульоне рН — 7,0—7,2. Пассаж выдерживался при комнатной температуре до 6 месяцев.

При проверке титра фага в вышеуказанный срок, пассированный фаг на бульоне Хоттингера с глюкозой снизился с 10^{-10} до 10^{-3} тогда, как титр фага на обычном бульоне дал незначительное снижение с 10^{-10} до 10^{-9} .

Данный опыт подтвердил, что титр чумного бактериофага в бульоне с глюкозой падает сильнее, чем в простом бульоне.

В итоге изучения адсорбционной способности дрожжевой культурой чумного бактериофага можно сделать следующие выводы:

1. Дрожжевая культура, взятая в опыт, не адсорбирует на себе корпускулы чумного бактериофага, благодаря чему не может быть использована в качестве адсорбента последнего.

2. Фильтры, изготовленные из обыкновенного продажного талька, адсорбируют чумной бактериофаг с титром 10^{-10} полностью.

3. Азбестовые стерилизующие пластины при фильтрации малых объемов чумного бактериофага с титром 10^{-10} адсорбируют последний целиком, то есть до 10^{-0} .

4. Бульон Хоттингера с содержанием 1% глюкозы оказывает на чумной бактериофаг инактивирующее или адсорбционное действие. Это явление подлежит более детальному изучению.

5. Чумной бактериофаг в бульонной дрожжевой культуре может сохранять свой титр до 6—8 месяцев.

ЛИТЕРАТУРА

1. Д'Эрелль. Издание «Практическая медицина», 1927.
2. Вылегжанин В. И. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунология, № 7, 1942.
3. Крисс А. Е. Журнал «Микробиология», т. X, вып. 4, 1941.
4. Крисс А. Е. Доклады Академии наук СССР, т. XXXI, № 1, 1941.
5. Товарницкий В. И. и Чалкина О. М. Ж.М.Э.И. № 10—11, 1943.

6. Вайнберг Б. Г. и Френкман Л. М. Ж. М. Э. И. № 12, 1949.
7. Вайнберг Б. Г. и Френкман Л. М. Ж. М. Э. И. № 13, 1949.
8. Лобова Т. А. и Нафтулишина И. М. Ж. М. Э. И. № 12, 1949.
9. Соколов М. И. Ж. М. Э. И. № 1, 1949.
10. Крисс А. Е. и Рукина Е. А. Журнал «Микробиология», т. XVII, вып. 2, 1948.
11. Рыжков В. Л. и Овчарова М. П. Ж. М. Э. И. № 9, 1947.
12. Сергеев П. Г., Демина Н. А. и Рязанцева Н. Е. Ж. М. Э. И. № 3, 1945.
13. Сукнев В. В., Марецкая Т. И. и Кучина Е. М. Журнал микробиологии и иммунологии, т. VII, вып. 3, 1930.
14. Ратнер Л. С. Лабораторная практика № 12, 133.
15. Брунауер С. Адсорбция газов и паров т. 1, 1946.
16. Цвет М. С. «Хроматографический адсорбционный анализ», 1946.
17. Риверс Т. «Фильтрующиеся вируса», 1934.
18. Поль Одюруа «Ультравирussy», 1936.
19. Зильбер Л. А. и Ваструхова Е. И. Журнал микробиологии и иммунологии, т. XI, вып. 1, 1933.
20. Товарницкий В. И. «Вопросы медицинской вирусологии» вып. 1, 1948.
- Туревич Е. И. и Янушевич Н. Ф. Труды Всесоюзного совещания по изучению ультравирусов и фильт. вирусов, 1937.
22. Ваксман З. И. Антагонизм микробов и антибиотических веществ, 1947.
23. Фишер М. Н. Бактериофаг, 1939.

А. К. Скуратова

ИЗУЧЕНИЕ ПРИЧИН ПРОРОСТА ЖИВЫХ ВАКЦИН ПРИ ИЗГОТОВЛЕНИИ

(из вакцинного отдела)

Сухая живая вакцина ЕВ является одной из основных продукций нашего института для проведения профилактических мероприятий по борьбе с чумой. Единственным недостатком производства вакцины является высокий процент брака. Е. И. Коробкова отмечает, что загрязнение вакцины при ее производстве иногда достигает 100%.

Так первоначально было и при нашей работе. Брак сухой ЕВ вакцины достигал 60%, в том числе по готовой продукции 21,4% и по полуфабрикату маточных эмульсий 38,6%. Брак вакцины выражался в проросте ее посторонней микрофлорой — плесенью, сарциной.

Большой процент брака вакцины заставил работников отдела заняться поисками причин пророста и изысканием мер их ликвидации. В связи с этим была детально изучена технология производственных процессов получения вакцины и проведены следующие мероприятия:

1. Тщательная проверка всего стерильного материала, употребляемого для производства вакцины (сифоны для посева, смыва, шпателя).

2. Бакконтроль чистоты маточных эмульсий.

3. Проверка работы автоклава.

4. Весь производственный посев дважды микроскопически проверялся перед смывом: первый раз при выемке его из термостата и второй раз в смывочной комнате на рабочем столе. Все сомнительные флаконы проверялись мазком на чистоту культуры.

5. Был организован бригадный метод работы, что дало возможность устранить обезличенность и повысить ответственность работников за качество выпускаемой продукции.

В результате проведения всех вышеуказанных мероприятий выяснилось, что максимальный пророст давали маточные эмульсии, загрязнение которых посторонней микрофлорой происходило, очевидно, из воздуха в процессе смыва.

Установив в результате наблюдений, что первоисточником загрязнения вакцины является главным образом воздух производственных боксов, мы проверили степень его загрязнения и бактериальную флору методом открытых чашек.

Эта проверка показала, что большинство микробов относится к сапрофитам и преимущественно плесневым грибкам, чашки сплошь зарастали колониями плесени, их невозможно было сосчитать.

Наличие плесневого грибка в воздухе производственных боксов еще резче выяснилось после того, когда работниками МКЛ был проведен контроль стерильных шпательных бульонов, одновременно в производственных боксах вакцинного отдела и в боксе МКЛ. При проверке контролей через 48 часов после пребывания их в термостате при температуре 37°C, оказалось, что контроли, поставленные в производственных боксах вакцинного отдела, проросли плесенью, а контроли, поставленные в боксе МКЛ, были все стерильными. Это подтвердило, что воздух производственных боксов сильно загрязнен плесенью.

Источниками загрязнения воздуха могли быть: пыль поднимаемая со столов, микробы заносимые одеждой, руками работников и микробы, попадающие с током воздуха из других помещений.

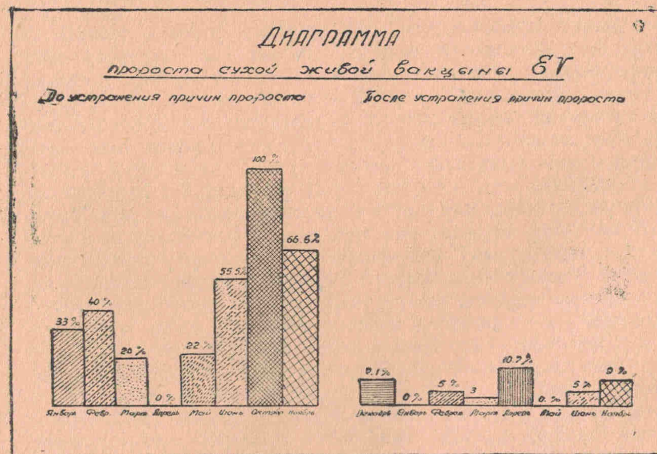
Но все эти причины исключаются, так как комнаты перед началом работы орошались 3% раствором карболовой кислоты, каждое утро проводилась влажная уборка всего помещения, работники перед работой мыли руки, одевали стерильные халаты, косынки, респираторы и специальную обувь, комнаты были изолированы, имели достаточную кубатуру и плотно закрывались.

Единственным возможным источником загрязнения воздуха производственных боксов оставался пол производственного помещения, покрытый линолеумом. Помещение много лет изо дня в день орошалось дезрастворами, под линолеумом скапливалась влага, пыль и создавались условия для развития

плесени, которая и была там обнаружена в большом количестве.

Второй причиной пророста маточных эмульсий и в целом брака, явилось также отсутствие еще необходимых практических навыков по выработке вакцины у большинства работников вакцинного отдела, что главным образом сказывалось в просмотре флаконов проросших микрофлорой, отчего загрязнялись маточные эмульсии. Так, например, врач со стажем по выработке сухой вакцины 1 год за два месяца работы дал 3,8% брака, со стажем 6 месяцев — 8,3% и со стажем 2 месяца — 22,2% за тот же срок работы.

Таким образом причинами пророста вакцины мы считаем, во-первых, воздух содержащий большое количество микрофлоры, источником загрязнения которого был пол, зараженный плесенью, во-вторых, — недостаточный опыт молодых работников вакцинного отдела, нередко допускавших загрязнение маточных эмульсий в момент смыва производственного посева.



После установления возможных причин пророста, в отделе был проведен ряд мероприятий, направленных на их устранение:

1. Производственные боксы были переведены в другое помещение с воздухом, содержащим небольшое количество микрофлоры — открытые чашки прорастали единичными колониями с преобладанием сарцины и кокков.

2. Установлен систематический бакконтроль маточных эмульсий и всего стерильного материала.

3. Введена микроскопия всех этапов процесса производства вакцин.

4. Организовано действенное социальное соревнование между бригадами в борьбе за качество.

В результате этих мероприятий брак снижен до 10,7% (диаграмма).

В настоящее время при производстве вакцины все внимание сосредоточивается на том, чтобы снизить процент брака, допускаемый инструкцией, а также добиться полного его устранения.

Л. Е. Хунданов

ОБ ЭФФЕКТИВНОСТИ КРОВЯНОЙ СЫВОРОТКИ ТКАНЕВОГО ФИЛЬТРА И ВЗВЕСИ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ГИПЕРИММУНИЗАЦИИ ЖИВОТНЫХ ЧУМНЫМ АНТИГЕНОМ

Из сывороточного отдела (заведующий отделом
Л. Е. Хунданов) Иркутского противочумного института.

Вопрос о месте максимальной концентрации специфических иммунных тел, вырабатываемых организмом, при гипериммунизации животных чумным антигеном, представляет теоретический и практический интерес. Этот интерес тем более оправдан, что современные противочумные сыворотки не дают достаточного эффекта, ни в профилактическом, ни в лечебном отношении. Многие авторы объясняют это слабым антигенным действием чумного микроба, что выражается в медленной выработке антител и медленном развитии иммунитета в целом. К тому же следует отметить, что антигены чумного микроба недостаточно специфичны. Так, групповые реакции противочумных сывороток с антигенами микроба псевдотуберкулеза грызунов, микробов группы геморрагической септицемии и даже кишечной палочки и протей — не являются редкостью. Это обстоятельство, повидному, объясняется тем, что возбудитель чумы существует в организме грызунов и человека в R-форме, то есть в такой стадии внутривидовой изменчивости, которой присущи в большей мере неспецифические антигены, общие с антигенами многих других видов микроорганизмов.

Наряду с этим можно предположить, что некоторая часть иммунных тел, образующихся в организме животных при процессе гипериммунизации, может остаться связанной во

внутренних органах, или же иммунные тела, находясь в крови после взятия ее, могут адсорбироваться форменными элементами крови и осесть на дно сосуда со сгустками, что может повести к снижению концентрации иммунных тел в сыворотке.

В связи с этим была поставлена задача, провести параллельное изучение концентрации иммунных тел во внутренних органах, в сыворотке и в сгустке крови сывороточных продуцентов, при гипериммунизации их чумным антигеном.

Для опыта нами были взяты 2 лошади сывороточного отдела, которые иммунизировались на протяжении 60 дней авирулентным штаммом *B. pestis* «EV». Доза последней инъекции равнялась 1600 млрд. микробов. Тотальное кровопускание лошадям производилось на 12-е сутки, после последней инъекции антигена. Кровь после взятия консервировалась 5% раствором лимоннокислого натра во избежание свертывания оседающих форменных элементов крови в сосуде.

Из жидкой части крови (плазмы) была приготовлена серия иммунной сыворотки, а из осадка форменных элементов — серия иммунной крови, путем разбавления его физиологическим раствором, из расчета на каждый грамм осадка 25 г физиологического раствора.

После тотального кровопускания, лошади были подвергнуты вскрытию, с последующим взятием по 150 г внутренних органов (печень, селезенка, легкие, лимфатические узлы). Из этих органов была приготовлена серия тканевого фильтра путем растирания с добавлением физиологического раствора, из расчета на каждый грамм органа 25 г физиологического раствора. После этого тканевой экстракт фильтровался через десятислойный марлевый фильтр. Консервантом для всех вышеуказанных биопрепаратов служил хлороформ в концентрации 0,5% по отношению к объему препарата.

После приготовления все серии биопрепаратов выдерживались в течение 4 месяцев, а затем проверялись на стерильность и безвредность. Убедившись в стерильности и безвредности, мы приступили к опытам; опыты проводились на 35 морских свинках, весом от 450 до 700 г. Свинки перед началом опыта были разбиты на 7 групп, по 5 свинок в каждой.

Для определения профилактической эффективности вышеуказанных препаратов, первой группе свинок за 24 часа до заражения было введено внутривенно по 5 см³ иммунной

сыворотки; второй группе свинок — по 5 см³ иммунной крови и третьей группе свинок — по 5 см³ тканевого фильтра.

Для определения лечебно-профилактической эффективности препаратов четвертой группе свинок, в момент заражения было введено внутривенно по 5 см³ иммунной сыворотки; пятой группе свинок — по 5 см³ иммунной крови и шестой группе свинок по 5 см³ тканевого фильтра. Седьмая группа свинок служила контролем в опыте.

Затем все подопытные и контрольные свинки были подвергнуты подкожному заражению вирулентным штаммом *B. pestis* № 125. Минимальная смертельная доза у нашего штамма равнялась 50 микробам, а заражение производилось 50 ДДМ.

Результаты опыта оказались следующими: из свинок седьмой контрольной группы, 4 пали на 6-е сутки с момента заражения и 1 — на 7-е сутки. Из свинок первой группы, которым было введено за 24 часа до заражения по 5 см³ иммунной сыворотки, 1 свинка пала на 9-е сутки, дав продление жизни по сравнению с контрольными на двое суток; 3 свинки — на 11-е сутки, дав продление жизни на 4 суток и 1 свинка выжила. Из свинок второй группы, которым было введено по 5 см³ иммунной крови, 2 свинки пали на 6-е сутки и 3 свинки на 7-е сутки. Из свинок третьей группы, которым было введено по 5 см³ тканевого фильтра, 2 свинки пали на 6-е сутки; 2 свинки на 7-е сутки и 1 свинка на 12-е сутки, дав продление жизни на 5 суток.

Из свинок четвертой группы, которым было введено в момент заражения по 5 см³ иммунной сыворотки, 1 свинка пала на 6-е сутки; 3 свинки — на 7-е сутки и 1 свинка на 9-е сутки, дав продление жизни на двое суток.

Из свинок пятой группы, которым было введено по 5 см³ иммунной крови, 2 свинки пали на 6-е сутки; 2 свинки — на 7-е сутки и 1 свинка — на 9-е сутки, дав продление жизни на 2 суток.

Из подопытных свинок последней шестой группы, которым было введено по 5 см³ тканевого фильтра, 1 свинка пала на 5-е сутки, 3 свинки — на 6-е сутки и 1 свинка на 7-е сутки.

Суммируя данные наших опытов, следует отметить, что в результате применения противочумной сыворотки, из 10 подопытных свинок одна выжила; 8 свинок дали продление жизни от 2 до 4 суток и 1 свинка пала одновременно с контрольными.

При применении иммунной крови из 10 подопытных свинок, ни одна свинка не выжила, 4 свинки пали в срок с контрольными, и 2 свинки дали продление жизни на двое суток.

При применении же тканевого фильтрата, из 10 подопытных свинок ни одна свинка не выжила, 1 свинка дала продление жизни до 5 суток; 9 свинок пали в срок с контрольными.

Резюмируя данные, полученные нами в опыте, следует отметить, что сравнительно лучший результат как в лечебном, так и в профилактическом отношении дает противочумная сыворотка, что указывает на максимальную концентрацию в ней иммунных тел, вырабатываемых организмом при процессе гипериммунизации животных. Что же касается иммунной крови и тканевого фильтрата, то их следует считать мало эффективными, повидимому, в силу ничтожной концентрации в них специфических иммунных тел.

П. А. Шершнев

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ЖИВОТНЫХ МЕМБРАН ПРИ ОЧИСТКЕ И КОНЦЕНТРАЦИИ СЫВОРОТОК

(Заметка из лабораторной практики).

Из сывороточного отдела (зав. Л. Е. Хунданов)
Иркутского государственного научно-исследовательского
противочумного института (директор — Н. Д. Алтарева)

Для повышения эффективности лечебно-профилактических сывороток применяются различные способы их очистки и концентрации. В большинстве случаев в этих методах для повышения качественного эффекта сывороток применяется фракционное осаждение нейтральными солями (сернистым аммонием, сернистым натрием и др.) как балластных, так и иммунно-активных белков. В дальнейшем, при получении этими способами очищенных и концентрированных сывороток, необходимо освобождаться от введенных нейтральных солей. Извлечение их производится путем водного диализа, и в качестве мембран для проведения указанной операции обычно применяются вязкие или целлофановые мешочки. Вязкие мешочки иногда бывает трудно приобретать, из-за их дефицитности. Целлофановые же листы, применяемые при диализе, непрочны и скорость диффузии удаляемых солей через них более длительна, чем через вязкие мешки.

В связи с этим в настоящей работе нами была поставлена задача проверить эффективность диализа нейтральных солей, в частности сернистого аммония, через животные мембраны сравнительно с диализом через вязкую мембрану.

В качестве мембран нами были взяты тонкие кишки и мочевые пузыри крупного рогатого скота, а также вязкие

мешочки (основные мембраны для сравнения). Животные мембраны были получены из Иркутского мяскокомбината, где они, по возможности, были очищены от мышечных и жировых слоев. Вязкозные мешочки были получены из Иркутского института эпидемиологии и микробиологии. Перед употреблением кишки и пузыри тщательно промывались 96% этиловым спиртом с целью обезжиривания и частичной стерилизации.

Очистка и концентрация сывороток производилась методом фракционного высаливания белков концентрированным раствором сернокислого аммония, с применением водного диализа.

Для данной работы были взяты две серии противочумной сыворотки: серия № 384, изготовленная 24/V—1948 г., и серия № 398, изготовленная 5/VI—1948 г., и одна серия противодифтерийной сыворотки № 96, изготовленная Иркутским институтом эпидемиологии и микробиологии в феврале 1948 г.

Извлечение сернокислого аммония из концентрированных сывороток производилось путем диализа проточной водопроводной водой в течение четырех суток. Температура воды колебалась в пределах от 10 до 16°C. Диализ производился в прямоугольном стеклянном аквариуме емкостью в 20 литров.

Определение процентного содержания белка производилось весовым способом; вязкость определялась при 20°C вискозиметром Оствальда; рН — по способу Михаэлиса; процентное содержание сернокислого аммония в концентрированных сыворотках определялось нефелометрическим методом.

Данные анализы взятых сывороток, а также полученных после очистки и концентрации сведены в нижеследующей таблице.

Содержание сернокислого аммония во всех пробах очищенных и концентрированных сывороток не превышало нормы при очистке и концентрации сывороток по данному методу (0,02—0,03%). Прохождение сернокислого аммония через животные мембраны по сравнению с вязкозным мешочком несколько не хуже, а в некоторых случаях даже лучше. Так например, в результатах опытов с противочумными сыворотками серии № 384 с мембранами кишки и пузыря, а также сыворотки серии № 398 с мембраной кишки, удаление сернокислого аммония происходит быстрее, чем через стенку вискозного мешка.

№ № по пор.	Вид сыворотки	№ серии	Наименование мембран	До очистки и концентрации			После очистки и концентрации			После разбавления физиологическим раствором и фильтрации через багеровский фильтр		
				Вязкость	Процент белка	pH	Вязкость	Процент белка	pH	Вязкость	Процент белка	pH
1.	Противодифтерийная	96	Виск. мешоч.	3,57	15,53	7,3	0,025	2,08	11,83	7,3	0,010	1000
				3,69	13,12	7,3	0,010	2,65	11,46	7,3	0,010	1000
				2,23	9,35	7,3	0,015	2,61	11,28	7,3	0,010	1000
2.	Противочумная	398	Виск. мешоч.	3,76	16,13	7,1	0,015	2,67	10,98	7,6	0,015	—
				3,33	14,36	6,9	0,010	2,67	10,81	7,6	0,010	—
				3,71	15,99	6,9	0,020	2,66	11,26	7,6	0,015	—
3.	Противочумная	384	Вязкоз. мешочек	2,85	10,65	6,9	0,015	2,43	10,42	7,6	0,010	—
				2,10	9,47	6,9	0,015	1,85	8,03	7,6	0,010	—
				2,28	9,28	6,9	0,020	2,10	8,50	7,6	0,010	—
			Кишки	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				—	—	—	—	—	—	—	—	—
				—	—	—	—	—	—	—	—	—
			Мочев. пузырь	—	—	—	—	—	—	—	—	—
				—	—	—	—	—	—	—	—	—
				—	—	—	—	—	—	—	—	—

В результате очистки и концентрации титруемой противодифтерийной сыворотки серии № 96 эффективность ее повысилась в 1,7 раза (было АЕ-600, получено АЕ-1000), как при применении вискозной, так и животных мембран. Это является подтверждением возможности применения при диализе животных мембран, без снижения антитоксического титра сыворотки.

В результате проведенной нами работы с тремя сериями сывороток можно сделать следующий вывод:

1. Вискозные мембраны, применяемые при водном диализе, для освобождения от нейтральных солей при очистке и концентрации сывороток могут быть вполне заменены животными мембранами (кишки или мочевого пузыря крупного рогатого скота), тем более что получение животных мембран не представляет большой трудности и стоимость их минимальна.

2. Мешочки из животных мембран могут служить неоднократно и прочность их более высока, чем вискозных.

Э. И. Клец.

МАТЕРИАЛЫ К ИЗУЧЕНИЮ КРОВЕПАРАЗИТОВ ГРЫЗУНОВ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ

Сообщение II-е

Во время эпидемиологических обследований различных районов нам удалось собрать через наши экспедиции большой материал, позволивший установить наличие кровепаразитов у ряда интересующих нас грызунов.

Материал, который был нами подвергнут изучению, поступил из разных районов Сибири, а именно: из окрестности ст. Харанор, и озера Дзарге-Дезарга Борзинского района, и из долины реки Енки в верховьях Кутомарского хребта. Александровского района. Затем мы располагали материалом из западного Забайкалья, район Закаменский. Кроме того мы имели материал из Прибайкалья — окрестности села Монды, в долине реки Иркуты.

В настоящем сообщении мы приводим только часть поступившего и изученного материала.

Не останавливаясь на литературных данных по вопросам о важности выяснения роли кровепаразитов в жизни грызунов и их значении, перейдем к систематическому изложению добытого материала.

1. Район станции и озера Харанор, намеченный для работы ввиду наблюдавшихся там находок павших тарбаганов, в этот сезон привлек наше внимание еще и потому, что по указаниям отдельных охотников здесь ранней весной встречались погибшие суслики.

При нашей работе в период июля мы такого явления не наблюдали. Однако, необходимо подчеркнуть, что у трех выловленных здесь сусликов (из 30) и у одной сенокоски (из

шести) мы могли отметить при микроскопии мазков крови резкий анизоцитоз, пойкилоцитоз, полихромазию. Установить связь с какой-либо инфекцией нам не удалось; также мы не могли обнаружить у этих больных животных кровепаразитов. Все же этот факт резкого изменения крови у некоторых грызунов в районе Харанор заслуживает внимания, и местность должна быть тщательно обследована с самой ранней весны.

В этом районе были пойманы хомячки в количестве 8 штук (*Cricetus barabensis* Pall.). У двух из них в мазках крови обнаружены бартонеллы в виде чрезвычайно мелких, 0,1—0,2 микрона, тонких палочек. Бартонеллы были в небольшом количестве, располагаясь в отдельных эритроцитах. Некоторые эритроциты содержали до 20—25 экземпляров бартонеллы. При окраске по Романовскому бартонеллы окрашивались в цвет ядер лейкоцитов. Со стороны белой и красной крови изменений не отмечалось, кроме легкой полихромазии.

У хомячков (самец и самка) бартонеллы наблюдались не только в мазках крови, но нам удалось обнаружить их и в мазках-отпечатках из внутренних органов в частности из почки. Морфология этих кровепаразитов не отличалась от морфологии бартонелл, встреченных в крови.

Эти находки заставили нас повторно провести исследование полевых Мышь в районе Борзи, где еще раньше было установлено у них наличие бартонелл в крови в 80% случаев. Здесь мы также подвергли исследованию внутренние органы и констатировали наличие бартонелл, особенно в мазках-отпечатках из легкого.

При исследовании мазков крови и внутренних органов тарбаганов (25 экз.) района ст. Харанор — кровепаразитов обнаружить не удалось.

2. В Александрово-заводском районе экспедиция работала в верховьях реки Енки в 55 км от районного центра и километрах в 3—4 от ближайшего небольшого населенного пункта.

В этом районе нами добывались путем отстрела и при помощи капканов бурундуки, сенокоски, и в жилых помещениях вылавливались крысы.

У альпийских пищух с россыпи Кутомарского хребта обнаружены бартонеллы (*Bartonella murgis*), в отдельных эритроцитах в виде мелких точечных образований, редко в виде заостренных палочек, иногда сплошь выполняющих эритроцит. По Романовскому они окрашиваются в синева-фиолетовый

оттенок. У трех самцов-сенокосок, добытых также с россыпи Кутомарского хребта в пади реки Енки, найдены в значительном количестве в мазках крови трипанозомы (*Trypanosoma Levvtz*). Встречались не только вполне развитые трипанозомы, но удалось наблюдать и лейшманиальную стадию (округлую форму с нежной оболочкой) по величине несколько большую чем эритроцит, с ясно окрашенной бледногубой протоплазмой, с отчетливым хроматиковым эксцентрично лежащим сетчатым ядром и точечным хроматиновым зернышком. Как известно, трипанозома обладает определенным полиморфизмом (Эпштейн), причем этот полиморфизм выражается в том, что трипанозома проходит следующие стадии развития.

1. Лептонадную — тело удлиненное, жгут начинается в самом переднем конце тела, перепонки нет.

2. Критидиальную — тело удлиненное, жгут начинается в передней половине тела, поблизости от ядра, перепонка очень мала.

3. Трипанозомную — тело удлиненное, жгут начинается в задней части тела, как раз у самого заднего конца, перепонка резко выражена.

4. Лейшманиальную — тело овальное или круглое небольших размеров, кинетопласт имеется, но жгута либо совсем нет, либо имеется лишь внутренняя часть его, соответствующая ризопласту.

Последняя (4) стадия встречается у трипанозомы лишь в некоторых случаях. При изучении препаратов этот полиморфизм всегда надо иметь в виду.

Затем у бурундука обнаружены в крови (мазок взят через 10 часов после гибели животного) бартонеллы в виде изящных слегка заостренных чрезвычайно мелких палочек (до 0,1—0,2 микрона) по 25—30 экземпляров в эритроците. Эритроциты увеличены, синева-окрашены по сравнению с другими.

Местами эритроциты разрушены, но бартонеллы сохранили свое групповое расположение.

В этой же местности пойман цокор — детеныш; кровь взята через 3 часа после гибели, найдены бартонеллы в виде длинных тонких палочек, размерами от 0,3 до 1,0 микрона, по 4—6 экземпляров в эритроците.

В ближайшем населенном пункте от места работы экспедиции, на базе по заготовке строительного леса — была пой-

мана в капкан крыса в мазках крови, которой обнаружены в значительном количестве трипанозомы (*trypanosoma* Lew .

3. Из западного Забайкалья, где лично нам не пришлось побывать, материал был доставлен экспедицией. Нами были исследованы мазки крови и отпечатки внутренних органов различных грызунов.

В группе крыс из шести обследованных экземпляров у четырех были обнаружены в большом количестве не только в мазках крови, но и во внутренних органах трипанозомы. Крысы были выловлены в с. Хамней Закаменского района и в с. Хулдат. Другие грызуны этой партии дали отрицательной результат, что конечно не позволяет еще делать вывода о пораженности грызунов данного района.

В нашем материале среди кровепаразитов грызунов довольно часто встречаются трипанозомы (крысы разных районов, сенокоски из Алекзавода). Этот паразит повидимому, широко распространен в природе, так как и по данным других авторов встречается также нередко.

Например, трипанозомы были находимы у тушканчиков (Засухин, Кольцов); у хомяков также встречалась трипанозома (*trypanosoma rabinowitschi* Brumpt). Дальнейшие наши сборы покажут, насколько широко распространен этот паразит у нас и какие виды грызунов им заражены.

4. Из Прибайкалья (с. Монды) был доставлен материал, среди которого мы должны подчеркнуть одну находку. У бурундука, убитого в окрестностях села Монды, в 15 км от жилых домов, в смешанном лесу по правому берегу реки Иркут, обнаружена в мазках крови и в отпечатках из селезенки и печени спирохета. Спирохеты встречаются в большом количестве, чаще отдельные, иногда образуются целые скопления спирохет в виде пучков. Других микробов не найдено. Со стороны крови анизозитоз, полихромазия. Длина спирохет около 12—18 микронов, ширина 0,4 м. Завитки неправильные. Высота завитков 3—4 микрона, размах 3—5 микронов. Встречаются экземпляры со многими мелкими завитками.

Одни морфологические данные, которыми мы располагаем, не дают нам возможности отнести эту спирохету к определенному виду. Все же такая находка фиксирует на себе наше внимание потому, что по своей морфологии обнаруженная спирохета сходна со спирохетой возвратного тифа.

Для клещевого возвратного тифа за последнее время по-

лучены новые данные, указывающие на весьма сложный процесс циркуляции возвратно-тифозного вируса в природе. Имеются определенные указания, что этот вирус связан с грызунами.

Так, Перфильев, скармливая клещей, собранных в дикой природе, тушканчику, вызвал у последнего возвратный тиф и находил в крови этого грызуна спирохету в течение месяца.

Латышев обнаружил спирохет у песчанки и показал заразительность ее крови для человека. Вместе с этим, работами Павловского установлено, что действительно вне связи с человеком, в дикой природе удается находить у клещей спирохеты возвратного тифа. Среди этих спирохет встречались такие, которые отличались друг от друга некоторыми свойствами и в то же время уклонялись от общеизвестных типов. Для человека они оказались патогенными. Таким путем определенные биотопы в естественных условиях (нора грызуна) могут оказаться потенциальными гнездами клещевого возвратного тифа. И факт нахождения большого количества спирохет у бурундука в окрестностях села Монды, заставляет нас в следующий сезон заняться более детальным изучением грызунов этого района.

В заключение считаю необходимым упомянуть, что нами обследовано на присутствие кровепаразитов (мазки крови, отпечатки печени, легкого, селезенки, почки) несколько групп тарбаганов: в окрестностях озера Харанор — 25 экземпляров, в Александровском заводе — 1 экземпляр, в окрестностях озера Дзарге-Дезарга (Борзинский район) — 110 экземпляров, из Закаменского района — 1 экземпляр. Результат отрицательный: кровепаразиты найдены не были.

Э. И. Клец

МАТЕРИАЛЫ К ИЗУЧЕНИЮ КРОВЕПАЗИТОВ ГРЫЗУНОВ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ

Сообщение III-е

Материал этой статьи содержит результаты исследования препаратов — мазков крови и отпечатков внутренних органов, приготовленных от грызунов, выловленных в Оловянинском районе.

Исследование велось по заранее выработанной методике и в своем принципе не отличалось от предыдущих наблюдений.

Препараты собраны экспедицией в окрестностях р. Онона.

По роду исследованных животных мы приводим несколько групп.

1. Мышь домовая

Всего этих мышей получено 8 экземпляров. Из них у одной найдены в мазках периферической крови бартонеллы в редких эритроцитах. Пораженные эритроциты несколько увеличены. Бартонеллы сплошь выполняют такие эритроциты и имеют вид мелких точечных образований или чрезвычайно тонких коротеньких палочек. В своей морфологии они не отличаются от той бартонеллы, которую мы наблюдали у крыс (*Bartonella muris*). Краской Романовского они окрашиваются равномерно в цвет ядер лейкоцитов.

II. Следующая группа изученных грызунов включала пещеру даурскую. Всего доставлено 16 экземпляров. Кровепаразиты найдены не были.

С таким же отрицательным результатом была изучена III и IV группа доставленного материала — 8 экземпляров джунгарского хомячка и 16 экземпляров монгольской полевки ни у той, ни у другой группы кровепаразиты не найдены.

Пятая группа включает в себя 5 экземпляров серой крысы. Из пяти обследованных экземпляров у двух найдена трипанозома *Trypan L.* У крысы № 299 трипанозома в мазках периферической крови в большом количестве, в мазках-отпечатках из селезенки — в скудном количестве. У крысы № 185 трипанозома встречается в мазках крови в умеренном количестве, в мазках из внутренних органов трипанозомы не обнаружены.

Шестая группа суслик даурский.

Всего просмотрено 13 экземпляров. У суслика № 271 найдена в мазках периферической крови и в отпечатках из селезенки трипанозома в значительном количестве. Трипанозома очень длинная, более узкая чем обычно встречающаяся у крыс, ядро у заднего конца — на расстоянии 8—10 микронов от него, кинетопласт у переднего конца; ундулирующая мембрана ясно выражена. Трипанозома в крови сусликов, по данным Засухина, довольно часто встречается у *Citellus pygmaeus* Pall. Лаверан дал название этой трипанозоме — *Trypanosoma spermophil*.

В европейской части нашего союза многими авторами встречена эта трипанозома в крови у разных сусликов — *Git. mugosaricus*, *Git. fulvus* (Кольцов), *Git. suslica* (Никитин и Артеменко) *Cit. musicus* и др. (Боженко).

По последнему автору этот паразит является мало патогенным для сусликов, все же в некоторых случаях способен давать воспалительные процессы в лимфатических железах, увеличение селезенки и понижать стойкость суслика к вредным влияниям (по Засухину, Вестник эпидемиологии и паразитологии, том IX).

Найденная нами трипанозома у даурского суслика по своей морфологии может быть отнесена, на наш взгляд, к трипанозоме, описанной у суслика Лавераном в 1911 г.

У суслика № 229 найдена в мазках периферической крови в скудном количестве анаплазма (*Anaplasma marginella*). В отдельных эритроцитах, по внешнему виду не отличавшихся от соседних, располагались, прилегая к внутреннему краю эритроцита, мелкие округлые тельца (0,1—0,3 микрона диаметром). Они встречались по одному, редко по два экземпляра в одном эритроците. При окраске по Романовскому они окрашивались в цвет хроматиновой субстанции.

Последней группой грызунов из материала этой экспедиции были тушканчики прыгуны.

Всего было исследовано 31 экземпляр.

У тушканчика № 49 в мазках периферической крови найдены бартонеллы в виде очень мелких, почти приближающихся по форме к кокку, образований. Они встречались в отдельных эритроцитах, обычно окрашенных нормально; количество их в одном эритроците достигло 30—35 отдельных кокков. Величина их значительно меньше, чем бартонеллы, встречаемые у других грызунов. Все же назвать их новым видом мы не решаемся, а относим их пока к роду *Bartonella muris*.

У тушканчика № 215 также в мазках периферической крови найдены бартонеллы, но здесь они имели вид чрезвычайно узеньких, коротеньких палочек, и редко обладали кокковидной формой. Располагались в количестве 15—20 экземпляров в некоторых эритроцитах и окрашивались, как кокковидные формы у № 49, в цвет хроматина.

У тушканчиков №№ 171, 191, 125, 365 обнаружены в периферической крови гемогрегарины, относящиеся к роду *Hematozoon*. У одного из них (№ 365) эти паразиты найдены также в отпечатках из селезенки, причем инфекция гемогрегаринами дублировалась наличием бартонелл в отдельных редких эритроцитах. В крови у этого тушканчика гемогрегарины встречались в большом количестве; у остальных трех — в незначительном количестве.

Гемогрегарины в подавляющем большинстве располагались свободно и очень редко находились внутри измененных бледно окрашенных эритроцитов. Эритроциты имели тогда вытянутую эллипсоидную форму с едва заметными контурами. Паразит своим длинным диаметром располагался по длиннику эритроцита и имел колбасовидную, слегка согнутую, полулунную форму с закругленными концами. Свободно расположенные паразиты имели также вид полулунных образований с закругленными концами. Длина гемогрегаринов колебалась от 5 до 8 микронов, ширина 2—3 микрона. При окраске по Романовскому все тело (протоплазма) паразита окрашивалось в небесно-голубой цвет, большую часть равномерно. Иногда в протоплазме паразита отмечалась легкая сетчатость, редко встречались бледные неокрашенные участки, и весьма редко внутри протоплазмы можно было отметить у концов паразита точечные яркокрасные включения. Каждый паразит имел ядро-хроматиново-окрашенную субстанцию. Ядро располагалось, как правило, в средней части тела паразита, иногда находилось ближе к одному из полюсов или да-

же тесно прилегало к одному концу. Ширина ядра соответствовала поперечнику паразита. Оно лежало так, что заполняло поперечник тела; длина ядра равнялась 2,5—3,5 микронов. Форма ядра несколько округлая с неясными границами, иногда имела форму неправильного кубика.

В большинстве случаев ядро компактное, хорошо окрашенное; иногда встречается рыхлое ядро с отдельными вакуолями, редко встречалось как-бы слегка раздвоенное ядро. Вокруг всего паразита в некоторых случаях на препаратах, окрашенных по Романовскому, удавалось видеть ясную безцветную капсулу. Каких-либо резких изменений со стороны морфологии крови отметить не удалось.

Эта находка в наших условиях является первой, но гемогрегарины были находимы у многих грызунов в разных странах.

В руководстве Провачека по патогенным простейшим приведена таблица, где перечислены животные, у которых были находимы гемогрегарины. В списке помимо других животных приведены названия одиннадцати разных грызунов, поражаемых этой инфекцией. В настоящее время этот список должен быть значительно расширен.

ЛИТЕРАТУРА

1. Засухин. Материалы по изучению кровепаразитов юго-востока СССР. Вестник эпидемиологии и паразитологии, вып. 1, 1936.
2. Клец Э. И. Материалы по изучению кровепаразитов Восточной Сибири. Известия Иркутского государственного противочумного института Сибири и Дальнего Востока, том IV, 1936.
3. Prowazek der pathogenen Protozoen. Zwaiter Bd. ; 1920.
4. Эпштейн Патогенные простейшие, 1931.

Цибулевская Ф. С.

К ВОПРОСУ О КРОВЕПАРАЗИТАХ СЕРОЙ КРЫСЫ

(Из Хабаровской противочумной станции. Начальник станции Ф. С. Ключкин, научный руководитель А. В. Маслов)

Одними из первых кровепаразитов млекопитающих были обнаружены в 1878 г. в Индии Льюисом — трипанозомы в крови у крыс, позднее Кентом, описанные под названием — *trypanosoma lewisii*

В Советском Союзе спонтанный трипанозомоз у сусликов был обнаружен Кольцовым, Головым, Боженко, Иловайским и другими авторами в различных районах (бывшая Херсонская губерния, Якутская, Урал и т. д.); трипанозомоз крыс с весьма высоким процентом инвазии (40%) Боженко наблюдал в окрестностях Саратова. На Дальнем Востоке Несын и Мариковский в Южном Приморье (Шмаковский район) обнаружили спонтанный трипанозомоз у 13 крыс из 23 обследованных (то-есть 56,5%), ими же указывается, что Грозовым отмечены трипанозомы у крыс и в Хабаровске, но более точных данных не приведено и результаты работы Громова остались для нас неизвестными.

Вопрос о патогенности этих паразитов для крыс долгое время служили предметом дискуссий, да и теперь еще в литературе нет единого мнения. Однако следует полагать, что присутствие паразита в крови в большом количестве для хозяина, конечно не безразлично. В частности Головым и Иловайским экспериментально доказано, что зараженные трипанозомами суслики погибают от меньших доз чумной культуры, чем здоровые, и что заражение трипанозомных сусликов чумной культурой ведет к усилению чумной бактеримии, что,

конечно имеет существенное значение в эпизоотологии чумы, а отсюда и в эпидемиологии этого заболевания.

Изучение кровепаразитов грызунов практически важно еще и потому, что, как показал Кольцов (1914 г.) и другие авторы, многие грызуны являются хранителями протозойных и иных вирусов, патогенных для домашних животных и человека, а с другой стороны патологоанатомические изменения у грызунов, вызванные кровепаразитами, нередко стимулируют у них патологоанатомическую картину чумы, что может повлечь за собой диагностические и эпидемиологические ошибки.

Исходя из указанной практической важности изучения кровепаразитов грызунов, краевой противочумной станцией и была предпринята настоящая работа, материалом для которой послужили крысы, собранные в г. Хабаровске и ближайших его окрестностях в течение 1947 г.

Исследованию на присутствие кровепаразитов (параллельно с обследованием на чуму) было подвергнуто 1202 крысы, выловленные плашками «Геро». В лаборатории изготовлялся мазок крови из сердца, мазок фиксировался смесью Никифорова и окрашивался по Романовскому.

К сожалению, в лабораторию доставлялся в большинстве случаев далеко недоброкачественный материал. Зимой крысы были замороженными, а летом, нередко полуразложившимися. Свежими были доставлены не более 450—500 крыс. Это обстоятельство несомненно сказалось на полученных цифрах инвазированности крыс трипанозомами.

В результате микроскопического изучения препаратов крови только в 30 случаях обнаружены кровепаразиты (исключительно трипанозомы — *trypanosoma lewisii*), что составляет только 2,5% инвазии, тогда как Несын и Мариковский приводят, хотя и на очень незначительном материале (всего 23 крысы) для Шмаковского района 56,5%. Интенсивность инвазии по нашим материалам в положительных случаях была весьма высокой до 10—15 трипанозом в поле зрения.

Для установления размеров и изменчивости длины трипанозом было предпринято измерение их длины при помощи объекта микрометра результаты получены следующие: пределы изменчивости длины от 9 микрон до 15,5 микрон (при П-283), средняя величина $M=12,14$ микрон $+0,9$ микрон. Среднее квадратическое отклонение $B=1,55$ микрон, коэффициент вариации $C=12,77$.

ВЫВОДЫ

1. Исследование мазков крови, взятой у 1202 крыс г. Хабаровска и его ближайших окрестностей, показало наличие только одного вида кровепаразитов — *Trypanosoma lewisi*, при чем процент инвазированных крыс оказался весьма невысок — всего 2,5% тогда, как интенсивность инвазии в положительных случаях значительна — до 10—15 и более трипанозом в поле зрения микроскопа.

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
1. Некролог А. А. Айсели	3
2. А. А. Айсели. Экспериментальная туляремия у серой крысы	5
3. А. С. Ухалов и В. Я. Михалева. Новая среда для выращивания туляремийного и чумного микробов	29
4. М. И. Андиферов и А. Ф. Пинигин. Иммунологическая характеристика некоторых туляремийных штаммов и подбор наиболее эффективной вакцинирующей дозы	38
5. Л. А. Смирнова и Л. В. Васюхина. Восприимчивость полевки Брандта к экспериментальной туляремии	50
6. С. В. Митин и В. А. Тирских. Действие фитонцидов лука и чеснока на чумную палочку (предварительное сообщение)	53
7. А. Ф. Пинигин. К вопросу изменчивости группы <i>Brucella</i> в процессе их хранения в лаборатории	63
8. В. С. Михно. Изучение возможности адсорбции бактериофага дрожжевыми клетками	73
9. А. К. Скуратова. Изучение причин пророста живых вакцин при их изготовлении	79
10. Л. Е. Хунданов. Об эффективности кровяной сыворотки тканевого фильтрата и взвеси эритроцитов при гипериммунизации животных чумным антигеном	83
11. П. А. Шершнева. Опыт применения животных мембран при очистке и концентрации сывороток (заметка из лабораторной практики)	87
12. Э. И. Клец. Материалы к изучению кровепаразитов грызунов Восточной Сибири (Сообщение II-е)	91
13. Э. И. Клец. Материалы к изучению кровепаразитов грызунов Восточной Сибири (Сообщение III-е)	96
14. Ф. С. Цибулевская. К вопросу о кровепаразитах серой крысы	100

Сдано в набор 30 августа 1951 г. Подписано к печати 20 октября 1951 г.
Печ. лис. 6¹/₂. Тираж 1000. Заказ № 2091. НЕ 07042

Отпечатано в тип. «Советский боец». Иркутск, Вузовская Набережная, 36.