Է. Ո. ԿԱՐԱԲԵԿՈՎ

МАТЕРИАЛЫ ПО ОБРАЗОВАНИЮ И РЕГЕНЕРАЦИИ
 ФИЛЬТРУЮЩИХСЯ ФОРМ БАКТЕРИЙ БРЮШНОГО ТИФА
 В ОРГАНИЗМЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

Задачей настоящей работы являлось изучение некоторых вопросов, касающихся условий образования и регенерации фильтрующихся форм бактерий в организме лабораторных животных (белых мышей и кроликов), находящихся в различных иммуно-биологических состояниях, так как эти исследования, наряду с изучением антигенных и иммуногенных свойств фильтрующихся форм и биологических свойств регенерированных из них культур, создают определенные предпосылки для суждения о возможной роли фильтрующихся форм бактерий в инфекционной патологии.

Все опыты проводились нами на музейном брюшнотифозном штамме 0—901, типичном по всем своим свойствам.

Были взяты для опытов три группы животных (в каждой группе по 50 белых мышей и 6 кроликов), одна из которых предварительно иммунизировалась двукратным введением вакцины, приготовленной из исходного штамма 0—901, вторая группа подвергалась общему однократному облучению из рентген-терапевтического аппарата РУМ-11 в дозе 570 рентген в течение 10 мин. и третья группа состояла из нормальных, не подвергнутых никаким воздействиям животных.

Опыты были поставлены в двух сериях: первая—с целью изучения образования фильтрующихся форм тифозных бактерий в организме указанных групп животных и вторая—с целью изучения регенерации их в организме таких же групп животных.

В опытах первой серии животные всех трех групп заражались 18-часовой агаровой культурой 0—901, затем трупы погибших и забитых животных вскрывались, органы измельчались и фильтровались через фильтр Зейтца, а фильтраты вводились в желтки куриных яиц для регенерации фильтрующихся форм.

Было исследовано 23 фильтрата, полученные из органов иммунных животных, 26 фильтратов—из органов нормальных и 23 фильтрата—из органов облученных животных. Результаты этих исследований приведены в табл. 1.

Как видно из табл. 1, из органов группы иммунных животных получено 8 вторичных культур, причем 5 из них были биохимически и серологически совершенно инертными, 2 культуры ферментировали углеводы короткого нестрога ряда с кислотогазообразованием, и

1 культура, кроме глюкозы и маннита, сбраживала также и сахарозу до кислотообразования. Все 8 регенерированных культур не агглютинировались сывороткой, полученной против исходного штамма 0-903. Из 26 фильтратов органов нормальных животных выделены

Таблица 1

Группа животных	Вид животных	Количество фильтратов	Количество регенерированных культур	В том числе			
				типичные	инертные	прочие	
Иммунные	опыт	белые мыши	20	7	—	4	3
		кролики	3	1	—	1	—
	контроль	белые мыши	5	—	—	—	—
Полученные	опыт	белые мыши	23	2	1	—	1
		кролики	3	—	—	—	—
	контроль	белые мыши	5	—	—	—	—
Облученные	опыт	белые мыши	20	2	1	—	1
		кролики	3	—	—	—	—
	контроль	белые мыши	5	—	—	—	—

2 вторичные культуры, причем одна из них по биохимическим и серологическим свойствам была близка к исходному штамму, а другая резко отличалась от него.

Из фильтратов органов облученных животных регенерированы 2 вторичные культуры, одна из которых по свойствам была похожа на исходный штамм, а другая резко отличалась от последнего.

При сравнении результатов опытов по каждой отдельной группе животных обращают на себя внимание следующие два обстоятельства:

а) наибольшее количество вторичных культур получено из фильтратов органов иммунных животных, чем из фильтратов органов нормальных и облученных животных;

б) среди вторичных культур, полученных из фильтратов органов иммунных животных, нет ни одной с исходными свойствами. Все они резко отличаются от исходного штамма. Из фильтратов же органов нормальных и облученных животных регенерированы вторичные

культуры, обладающие характерными для исходного штамма свойствами.

Эти два обстоятельства, нам кажется, могут дать основание для следующего предположения.

При попадании бактерий в специфически иммунизированный организм, в результате осуществления всего комплекса иммуно-биологических реакций организма, наступает быстрое разрушение бактериальных клеток, что, по-видимому, ведет к образованию большого количества фильтрующихся форм, способных в дальнейшем, при определенных условиях, к регенерации в клеточные формы. Образование фильтрующихся форм бактерий в значительно меньших количествах имеет место и в нормальном и в облученном организме, лишенных специфических защитных функций. И в этом случае оно, по всей вероятности, связано с разрушением бактериальной клетки, которое может иметь место, но в значительно меньшей степени, под влиянием естественных защитных механизмов. Наряду с этим нужно предполагать, что имеется существенная и качественная разница между фильтрующимися формами, образовавшимися в организме иммуных животных, и фильтрующимися формами, образовавшимися в организме, не обладающим специфическим иммунитетом. Организм, обладающий специфическим иммунитетом, не только успешно борется с клеточными формами бактерий, но и влияет на образовавшиеся в ходе этой борьбы фильтрующиеся формы бактерий таким образом, что они, не теряя способности регенерироваться, теряют способность восстанавливать исходные видовые признаки.

Что же касается образования фильтрующихся форм бактерий в организме нормальных и тем более облученных животных, то нам кажется, что здесь, в результате слабой борьбы организма с бактериями, образуется мало фильтрующихся форм, но образовавшиеся могут сохранить способность к реверсии в исходный вид.

Следующим этапом работы было выяснение вопроса, происходит ли регенерация фильтрующихся форм в самом организме, находящемся в различных иммуно-биологических состояниях. Выяснение этого вопроса помогло бы создать предпосылки для суждения о возможности заражения макроорганизма непосредственно фильтрующимися формами патогенных бактерий из объектов внешней среды, об их значении для эпидемиологии.

Животные и в этой серии опытов подготавливались по описанной выше методике. На основании наших прежних данных было известно, что фильтрующиеся формы тифозных бактерий удается чаще регенерировать из фильтратов старых бульонных культур. Исходя из этого животным вводили проверенный „стерильный“ фильтрат старой бульонной культуры (1—90), из которого в опытах *in vitro* регенерировались вторичные культуры. Затем из органов погибших и забитых животных делались обычные бактериологические посевы на желчный бульон и Эндо-агар.

Результаты этой серии опытов приведены в табл. 2, откуда видно, что регенерацию фильтрующихся форм в организме иммунных животных нам не удалось наблюдать, тогда как из органов нормальных животных выделены 10, а из органов облученных животных 4 вто-

Таблица 2

Группа животных	Вид животных	Количество	Количество вторичных культур	В том числе		
				типажные	инертные	прочие
Иммунные	опыт	белые мыши	20	—	—	—
		кролики	3	—	—	—
	контроль	белые мыши	5	—	—	—
Нормальные	опыт	белые мыши	20	10	—	6
		кролики	3	—	—	—
	контроль	белые мыши	5	—	—	—
Облученные	опыт	белые мыши	20	4	—	—
		кролики	3	—	—	—
	контроль	белые мыши	5	—	—	—

ричные культуры. Изучение морфологических, биохимических и серологических свойств выделенных вторичных культур показало, что все они резко отличаются от исходного штамма по своим свойствам.

При сравнении результатов, полученных в этой серии опытов, с результатами опытов предыдущей серии можно заметить, что они совершенно противоположны. Это обстоятельство находим возможным объяснить следующим образом.

При введении в организм иммунного животного фильтрующихся форм бактерий (фильтратов), по отношению к которым организм обладает специфическим иммунитетом, они, под влиянием факторов специфического иммунитета, теряют способность к регенерации в организме. В организме же животных, не обладающих специфическими факторами защиты (нормальные и облученные животные), по-видимому, способность к регенерации не теряется. То обстоятельство, что все полученные из организма этих животных вторичные культуры оказались резко отличающимися от исходного штамма, по всей вероятности, можно объяснить вредным действием естественных факторов защиты, в результате чего фильтрующиеся формы, образовавшиеся в других

условиях (условия культуры), регенерируясь в организме, теряют способность к реверсии. При таком объяснении однако возможно допустить, что в организме облученных животных, где процессы естественной защиты максимально угнетены лучевой болезнью, регенерация должна протекать наиболее успешно и регенерированные формы должны обладать признаками исходного вида. Однако, как было видно из табл. 2, этого мы не наблюдали.

Следует отметить, что под влиянием облучения белые мыши и кролики погибали на 10—15-й день. При вскрытии трупов этих животных мы наблюдали резкое покраснение и кровоизлияния в серозных оболочках и внутренних органах, резкое уменьшение печени и особенно селезенки. При бактериологическом исследовании органов были выделены культуры кишечной палочки и вульгарного протоя, что свидетельствует о сепсисе в результате аутоинфекции. По всей вероятности, это и является причиной, влияющей на ход регенерации фильтрующихся форм в организме облученных животных.

Таким образом, если для образования и регенерации фильтрующихся форм бактерий в условиях организма имеют значение специфические и естественные факторы защиты, возникает необходимость выяснить вопрос—способен ли организм вести борьбу против самих фильтрующихся форм, попавших в него из объектов внешней среды, т. е. способны ли последние вызвать образование антител, мобилизацию защитных сил организма.

Исходя из этого, нами, проперевым стерильным фильтратом старой бульонной культуры 0—901, иммунизировались белые мыши и спустя 10 дней заражались внутрибрюшинно одной ДЦД культурой исходного штамма 0—901. Выяснилось, что в результате иммунизации белых мышей фильтратом старой бульонной культуры 0—901 и последующего их заражения 1 ДЦД этой же культуры 75,8% мышей выжили. Процент выживших мышей, иммунизированных вакциной из исходного штамма, оказался примерно такой же (77,8%). Контрольная группа неиммунизированных мышей полностью погибла от указанной дозы.

Результаты приведенных опытов свидетельствуют об иммуногенных свойствах фильтратов старой бульонной культуры тифозных бактерий (фильтрующихся форм). На основании этого можно допустить, что фильтрующиеся формы (фильтраты) бактерий брюшного тифа способны мобилизовать защитные силы организма, придать им характер специфичности.

Эти данные подтверждаются результатами исследования антигенных свойств фильтратов. Опыты проведены на кроликах, у которых в предварительных опытах наличие нормальных антител было исключено. В качестве исследуемого материала были взяты: а) фильтрат старой бульонной культуры 0—901, б) пятикратно промытый физиологическим раствором осадок, полученный из фильтрата старой бульонной культуры 0—901 в результате центрифугирования при 4000

оборотах в мин. в течение 0,5 ч., в) надосадочная жидкость, полученная при центрифугировании фильтрата. Иммунизация проводилась пятикратно, с интервалами в 4 дня по 1 мл внутривенно. В результате этого исследования было выяснено, что антигены содержались как в цельном фильтрате, так и в осадке и в надосадочной жидкости. Они вызвали образование специфических бродяжнотифозных антител в организме кроляков, сыворотка которых в реакции агглютинации с исходной культурой агглютинировала последние в достаточно высоких разведениях (до 1:3200).

Безусловно, нужно учитывать, что в фильтрате могли содержаться как обломки разрушенных бактериальных клеток (оболочка, жгутики и пр.), так и растворенный эндотоксин, которые и могли оказаться антигенами и вызвать образование специфических антител в организме кроляков. Однако, учитывая, что до настоящего времени не установлена природа фильтрующихся форм бактерий, не известно какая часть бактериальной клетки способна к регенерации и исходя из допущения, что фильтрующиеся формы образуются в результате неблагоприятных воздействий на бактерии, вызывающих распад их клеток, частицы которых в дальнейшем способны регенерировать вновь в клеточную форму (Тимаков, Пшеницкий, Муромцев), имеются некоторые основания отнести полученные результаты за счет фильтрующихся форм тифозной палочки.

Таким образом, можно предполагать, что фильтрующиеся формы бактерий в опытах на животных обладают антигенными и иммуногенными свойствами, т. е., попадая в организм, способны вызвать мобилизацию защитных сил, придать им характер специфичности, что позволяет в дальнейшем организму легко справляться и с регенерированными формами.

Это предположение побудило нас изучить вопрос насколько чувствительны выделенные нами регенерированные формы к сывороткам, полученным в результате иммунизации кроляков фильтратами и его компонентами. С этой целью были отобраны 53 вторичные культуры, полученные нами из фильтрующихся форм бродяжнотифозных бактерий в 1957—1959 гг., которые ставились в реакцию агглютинации с вышеупомянутыми сыворотками.

Из 53 вторичных культур 18 были с типичными для тифозной палочки биохимическими свойствами, 13 были биохимически инертными и 22 культуры сбраживали глюкозу, маннит и сахарозу с образованием кислоты и газа. В результате этого исследования выявилось следующее.

Все 18 типичных по биохимическим признакам вторичные культуры агглютинировались как сыворотками, полученными в результате иммунизации кроляков фильтратом и его компонентами, так и сывороткой, полученной против исходного штамма 0—901 в среднем в титрах 1:800—1:1600.

Из 13 инертных вторичных культур 5 агглютинировались сыворотками против фильтратов в титре 1:1600, а 2 штамма из их числа и сывороткой против исходного штамма в титре 1:1600. Остальные 8 штаммов ни одной из этих сывороток не агглютинировались. Среди 22 газообразующих вторичных культур ни одна не агглютинировалась сыворотками против фильтратов, но 2 штамма агглютинировались в титре 1:400 сывороткой против исходного штамма.

Эти данные позволили заключить, что антитела, выработанные против фильтрующихся форм брюшнотифозных бактерий, способны вступать в реакцию и с вторичными культурами, причем наибольшую чувствительность проявляют обладающие исходными видовыми признаками вторичные культуры.

Таким образом, на основании всего вышесказанного можно сделать следующее общее заключение:

1. Возникновение фильтрующихся форм брюшнотифозных бактерий нужно рассматривать как явление приспособительной изменчивости этого вида микроорганизмов, возникающего в результате действия на них вредных факторов внешней среды, каковыми в условиях организма лабораторных животных являются: а) факторы специфического иммунитета, б) факторы естественной защиты организма.

В результате действия перечисленных факторов в организме наступает разрушение бактериальной клетки, вследствие чего образовавшиеся частицы клетки сохраняют способность к регенерации вновь в клеточную форму. Однако в организме как процесс регенерации, так и сопряженный с ним процесс реверсии видовых свойств в свою очередь подвергаются вредному влиянию указанных факторов специфического и естественного иммунитета.

2. Заражение организма фильтрующимися формами брюшнотифозных бактерий из объектов внешней среды вряд ли может повести за собой развитие инфекционного процесса, так как для этого необходимо, чтобы они регенерировались в клеточную форму и восстановили свои видовые свойства. Из вышесказанного было видно, что процессы регенерации и реверсии фильтрующихся форм в организме затруднены в связи с неблагоприятным воздействием на них защитных сил организма, особенно если эти силы обладают характером специфичности к данному виду бактерий. Само же внедрение в организм фильтрующихся форм может вызвать мобилизацию всех защитных сил организма, придав им характер специфичности, что еще больше затруднит регенерацию и особенно реверсию.

Значение для инфекционной патологии и эпидемиологии, на наш взгляд, могут иметь лишь сформированные из фильтрующихся форм вторичные культуры, восстановившие свои исходные свойства еще в организме. Но в этих случаях уже придется иметь дело не с

միլիտրոյուցիանիս ֆորման, ի ս կետոչնիս, տակ նաչնաեմանիս անման ֆորման Բակտերիոյ, որորն: ~~առանց~~ սոճալոյս անման ֆորման Բակտերիոլոգիոսնիս մեթոճանիս:

Լաբորատորիա Զուքրիոլոգիոյ Ինստիտուտ
Յուկլեմիոլոգիոյ և Գիտնիս
Մինիստրա ՎրասՍՍՐ

Սոստիւնալ 28 Մի 1960 Վ

Վ. Պ. ԿԱՐԱԵԿՅԱՆ

ԼՐԱՊՈՅՐՄԻՆՏԱԿ, ԿԵՆՏՐՈՆԵՆԵՐԻ ՍՐՈՎԱՆՈՒՄԻՄ ՍԻՈՎԱՅՆԱՏԻՆԱՅԻՆ
ԲՈՒՄՆԵՐԱՆԵՐԻ ՖԻԼՏՐՎՈՂ ԶԵՎԵՐԻ ԱՌՈՒՅԱԾՈՒՄԸ ԵՎ ԻՆՎԵՆԵՐԱՅԻՆԱՅԻ
ՎԵՐԱՆԵՐՅԱԿ ՆՅՈՒԹԵՐ

Ա մ փ ո թ ո Վ

Աշխատութեան նարատակն է Եզեկ սոսննատարիսը սրոպայնատիֆային բակտերիաների ֆիլտրիոյ ձևերի ստաչացումն և սեղաներացիոյս նարատարութեանը տարրեր իմանա-բիոլոգիական սպայնաներում գտնվող սպիտակ մկնների և ճաղարների սրգանիզմում:

Փորձերը կատարվել են 0—901 սրոպայնատիֆային շտամի հետ, որը իր բոլոր շտակաբխաններով Եզեկ է տիպիկ:

Փորձերը կատարվել են 2 սերիալով, ըստ որում առաջին սերիալի փորձերը նպատակ են անեցել սպարզել սրոպայնատիֆային բակտերիաների ֆիլտրիոյ ձևերի ստաչացումն նարատարութեանը նշված կենդանիների սրգանիզմում:

Երկրորդ սերիալի փորձերը դրվել են նախ բանակի և խմրի կենդանիների վրա, նպատակ աննայով սպարզել ֆիլտրիոյ ձևերի սեղաներացիոյս նարատարութեաները նրանց սրգանիզմում:

Ընչպես ցույց տվեցին կատարված հետազոտութեաները, սրոպայնատիֆային բակտերիաների ֆիլտրիոյ ձևեր ամենից շատ ստաչացել են իման կենդանիների սրգանիզմներում (23 առնառաքից ֆիլտրատներից 8-ը), ըստ որում ստացված երկրորդային կուլտուրաները իրենց շտակաբխաններով խիստ տարրերիկ են սկզբնական 0—901 շտամից:

Ճատաղայթեցված և նորմալ կենդանիների սրգանիզմներում ֆիլտրիոյ ձևեր ստաչացել են ավելի բիջ լանչատայիկ է 2-ական երկրորդային կուլտուրա սոսննատարից ամեն մի խմրի կենդանիներից: Սակայն, այդ կուլտուրաներից 2-ը իրենց շտակաբխաններով տիպիկ են Եզեկ սրոպայնատիֆային բակտերիաների նամար:

Այս սերիալի փորձերից ստացված արզանքները մեզ թվում է կարելի է բացատրել նրանով, որ իման-սրգանիզմում բակտերիաները սրգանիզմի սպեցիֆիկ հակամարմինների ազդեցութեան տակ սչնչանում են մեծ քանակութեամբ, որի հետևանքով էլ ֆիլտրիոյ ձևեր կարող են ստաչանալ համեմատաբար մեծ քանակութեամբ: Սակայն հակամարմինների ազդեցութեանը, կարելի է ենթադրել, չինում է աչնրան խորը, որ ֆիլտրիոյ ձևերից ստաչացված երկրորդային կուլտուրաները սեպիտոբոլի մեակութեանը լրիվ կորցնում են Ընչնախատակը, նորմալ և ճատաղայթեցված կենդանիների սրգանիզ-