

А. Ш. Дзлавян

К вопросу о пигментообразовании *V. Shiga*

(Представлено В. О. Гулканяном 15 X 1946)

По вопросу изменчивости микробов имеются многочисленные работы как советских, так и иностранных авторов. Относительно пигментообразования бактерий кишечно-тифозной группы имеются литературные данные, указывающие о получении желтых вариантов. Под действием бактериофага Ротенбург (1) получил желтые варианты тифозных палочек, Коробкова и Котельников (2)—паратифозных палочек. В. Штудер (3) также наблюдала при культивировании тифозных палочек на карболовом агаре образование желтого пигмента. Парр (4) выделил из фекальных масс одного больного штамм, сходный с культурой кишечной палочки, но выделенная культура продуцировала золотисто-коричневый пигмент. Автор придает санитарно-гигиеническое значение выделенному штамму, так как обычно желтые бактерии принято считать не фекального происхождения.

Титтслер (5) выделил из *faeces* и воды хромогенные штаммы кишечной палочки красновато-оранжевого цвета.

В течение лабораторной работы нами были обнаружены некоторые ферментативные и биологические особенности различных дизентерийных штаммов бактерий Шига, выделенных в различных местностях. Одним из отличительных свойств новых вариантов—это наличие лактозоферментирующих колоний на среде Эндо, о чем указано нами в отдельной работе (7).

При изучении лактозоферментирующих штаммов Шига мы обнаружили на одной из чашек со средой Эндо слабую ферментацию лактозы. При оставлении культуры в условиях термостата при 37°, это изменение стало более отчетливым через 48 часов. При осмотре чашек невооруженным глазом, на месте нанесения капли культуры, эмульгированной в мясopептонном бульоне $pH=7,3$, был обнаружен слизистый рост с желтовато-красным, вернее оранжевым оттенком. Одновременно было констатировано наличие бактериофага; края колонии были изъедены, весьма четко были видны *taches vierges*. Из указанного места, где

культура имела склонность к пигментообразованию, был сделан пересев и приготовлен препарат для микроскопического исследования. Культура, взятая петлей, имела слизистую консистенцию и была темно-янтарного цвета.

При окраске по Граму бактерии обесцвечивались и представляли мелкие тонкие палочки с закругленными концами. Микроскопия живой культуры в висячей капле показала неподвижные палочки.

Способность пигментообразования сохранилась за все время нашего наблюдения.

Изучение биохимических свойств вышеуказанной культуры (Т 441,) выявило следующее: они ферментировали из цветных сред Гисса глюкозу, мальтозу и сахарозу с образованием кислоты. Свойство сбрасывать сахарозу оказалось преходящим, так как через 24 часа произошло восстановление щелочной реакции. Подобные результаты были получены Лунцем (2) при изучении биохимических свойств дизентерийных палочек. Каталазная реакция проверялась по Кеку и оказалась положительной; по этому вопросу в литературе имеются указания о наличии каталазопозитивных штаммов.

Имея такую своеобразную культуру дизентерийных бактерий Шига, мы приступили к изучению серологических свойств этого штамма. С этой целью в качестве антигена нами были использованы 4 колонии желтого варианта указанных бактерий, кроме того в этот опыт был включен ряд лабораторных типичных штаммов бактерий Шига. Для реакции агглютинации мы пользовались агглютинирующими сыворотками антишига Мечниковского института, ЦИЭМ и сывороткой антифлекснер Производственного сектора ЦИЭМ. Агглютинационные пробы были поставлены также с кроличьими сыворотками собственного изготовления, полученными путем иммунизации ташкентским штаммом (Т 441,) и ленинградским штаммом (Л 14—281).

Результаты серологических исследований приведены в таблице.

Изучение антигенной структуры приведенных культур заслуживает особого внимания. Оказалось, что сыворотка, полученная от исходного штамма, слабо действует на культуры желтого варианта, следовательно, при расщеплении желтого варианта, повидимому, произошла перестройка рецепторного аппарата.

Вышеуказанные культуры (из 4 колоний желтого варианта) агглютинировались сывороткой Мечниковского института в высоких разведениях. Наряду с этими данными получили сравнительно слабо выраженную агглютинацию с сыворотками—антишига ЦИЭМ и Л 14—281.

Реакция агглютинации с сывороткой Флекснер указывает на некоторый „серологический космополитизм“ желтого варианта.

Рассматривая таблицу, мы видим, что ташкентская дизентерийная культура 441—3, от которой получен желтый вариант, агглютинировалась как с гомологической кроличьей сывороткой, так и сывороткой антишига Института им. Мечникова (Москва). Остальные три штамма, выделенные

также в Ташкенте, дали положительную реакцию агглютинации сывороткой антишига ташкентского 441—3, ленинградского 14—281, Мечниковского института и ЦИЭМ, за исключением ташкентского штамма 451, который не агглютинировался сыворотками Мечниковского института.

Ленинградский дизентерийный штамм 14—281 агглютинировался со всеми примененными агглютинирующими сыворотками антишига, за исключением кроличьей сыворотки Т 441—3.

Инагглютинабельным оказался римский штамм 13—33, который представляет собою R форму бактерии Шига. Как видно из таблицы, эта культура агглютинировалась только с кроличьей сывороткой Л 14—221 в разведении 1:200 и сывороткой ЦИЭМ 1:100.

Все дизентерийные культуры, приведенные в таблице, проявили очень слабую групповую агглютинацию с антисывороткой Флекснер.

По биологическим свойствам, изучаемый желтый вариант можно отнести к числу авирулентных и атоксических культур бактерии Шига, так как при интраперитонеальном введении живой культуры смертельная доза оказалась больше 6 *млд*, а при введении тем же путем убитой культуры в количестве 10 *млд* микробных тел ни одна мышь не погибла.

Подобное явление, т. е. аттенуация вирулентности живой культуры, а также атоксичность вакцины, повидимому можно объяснить действием бактериофага. Понижение вирулентности дизентерийных палочек или связано с адсорбцией бактериофага на поверхности бактериальной клетки, или же под действием последнего уменьшается количество полисахарида.

Для того, чтобы установить иммуноспецифичность желтого варианта, мы вакцинировали 33 мыши этим штаммом (колония № 2). Имея представление о вирулентности и токсичности желтого варианта культуры № 2, при иммунизации белые мыши получили во время первой инъекции 1,5 *млд* микробных тел в объеме 0,5 *см*³, через 6 дней, во время второй инъекции—7,5 *млд* в таком же объеме.

Ввиду некоторых обстоятельств пришлось ограничиться двумя инъекциями. Проверка прямого и перекрестного иммунитета проводилась через 9 дней после второй инъекции.

При проверке иммунитета вакцинированные мыши заражались ленинградским штаммом 14—281, витебским—920, ташкентским—419 и римским—13—33. Количество вводимых культур соответствовало смертельной дозе.

Вакцинированные мыши оказались резистентными в отношении римского штамма 13—33 на 80%, ленинградского 14—281 на 40%, при 100% гибели контрольных животных.

Было проверено иммунное состояние мышей, вакцинированных типичными дизентерийными культурами Шига—ташкентским штаммом 451 и 720 в отношении желтого варианта № 2. С этой целью мыши, вакцинированные вышеуказанными культурами, были заражены живой культурой № 2 в количестве 10 *млд* и 13 *млд* микробов в объеме 0,5 *см*³. При инокуляции вакцинированных мышей такими массивными

дозами, мы смогли констатировать некоторую толерантность мышей при введении 10 млрд микробных тел иммунизированных только ташкентским штаммом 451.

Выводы. 1. В условиях нашего опыта дизентерийные бактерии Шига под действием спонтанно возникшего бактериофага образовали желтый пигмент. По своим морфологическим, тинкториальным свойствам желтый вариант идентичен с дизентерийными культурами Шига, но отличался некоторыми биохимическими особенностями.

2. Изучение серологических свойств желтого варианта дает основание считать его соответствующим сыворотке антишига, но по сравнению с исходным штаммом имеется изменение в рецепторном аппарате. Реакция агглютинации с антисывороткой Флекснер указывает на некоторый „серологический космополитизм“.

3. Мыши, иммунизированные желтым вариантом, оказались резистентными в отношении смертельной дозы R формы дизентерийных палочек Шига и частично S формы ленинградского штамма 14—281.

4. Мыши, иммунизированные ташкентским штаммом 451, оказались слабо иммунными против 10 млрд микробных тел желтого варианта.

Москва, 1939, апрель.

Ա. Մ. ԴԻԼԱՆՅԱՆ

В. Shiga պիգմենտ առաջացնելու հարցի օւերքը

1. Մեր փորձնական աշխատանքների ընթացքում դիզենտերիայի Շիգա բակտերիաները, ինքնուրույն գոյացած բակտերիոֆագի ազդեցութեամբ, առաջացրին դեղին դիզմենտ:

Ըստ մորֆոլոգիական և ներկման հատկութիւնների՝ դեղին վարիանտը համապատասխանում է դիզենտերիայի Շիգա կուլտուրաներին, սակայն նրանցից տարբերվում է որոշ բիոքիմիական առանձնահատկութիւններով:

2. Դեղին վարիանտի շինուկաբանական հատկութիւնների օւսումնասիրութեամբ հիմք է առիւն նրան համարելու որպէս անտիշիգա շինուկին համապատասխան անտիգեն, բայց ղեկավարների որոշ վերադասավորմամբ հիմնական շամի նկատմամբ, հակաֆլեքսներյան շինուկի ազուտինացիայի ղեկցիան ցուցաբերում է որոշ անբուլոգիական կոմպոզիտիւմ:

3. Դեղին վարիանտով իմունիզացիայի ենթարկված սպիտակ մկները վարակման ժամանակ կարողացան դիմադրել դիզենտերիայի Շիգա ցուպիկներին R ձևի մահացու դոզային և մասամբ Լենինգրադի շամի 14—281 S ձևին:

4. Տաշկենտի 451 շամով իմունիզացիայի ենթարկված մկները ցուցաբերեցին թույլ դիմադրութիւն դեղին վարիանտի 10 մլդ միկրոբների ներարկմանը:

A. M. Dylanian

On the Question of the Pigmentformation of the Shiga Dysentery Bacteria

Studying the various strains of the Shiga bacteria we succeeded in observing the phenomenon of the growth of the dysentery bacteria on the Endo medium. A mucous growth of orange shade was found out on the place, covered with the bacterial emulsion.

The phenomenon of bacteriophage was simultaneously noted.

Having an original culture we proceeded to study its morphological, biochemical, serological and immunological properties.

The data mentioned above are given in the text.

CONCLUSIONS

1. Under the conditions of our experiment the Shiga dysentery bacteria, being effected by bacteriophage spontaneously arised, formed yellow pigment. By its morphological and tinctable properties, the yellow variant is identical to the Shiga dysentery cultures, but it differs from them in some biochemical peculiarities.

2. The sludying of serological properties of the yellow variant permits to consider it as one, corresponding to the serum of anti-Shiga, but being compared with the initial strain, the change of the receptor is observed.

The agglutination-test with the Flexner anti-serum, shows a certain serological cosmopolitism*.

3. Mice immunized with the yellow variant, showed to be resistant to a lethal dose of the rough form of the Shiga dysentery bacteria, and partly resistant to a smooth form of the Leningrad strain 14-281.

4. Mice immunized with the Tashkent strain 451 showed to be weakly-immune against 10 *mld* of microbic bodies of the yellow variant.

ЛИТЕРАТУРА

1. С. С. Ротенбург. Журн. МЭИ, № 5, 1938.
2. Луц. Мовогр., 1931.
3. В. И. Штукер. Журн. МЭИ, 18, в. 2, 1936.
4. Е. Коробкова и Г. Котельников. Zbl. f. Bact. R. 138, № 5/6, 119, 1940.
5. L. W. Parr. Proc. of the. Soc. f. Exper. Biol. a Med., 35, № 4, 563, 1939.
6. R. P. Titsler. J. of Bact., 37, 91, 1939.
7. А. М. Диламян. ДАН Арм. ССР, 5, № 4, 1946.