

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

В. Н. ЗИЛЬФЯН, А. В. НОРАМИРЯН

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ  
ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ К ЧУМНОМУ МИКРОБУ

Сообщение I

Действие новоэмбихина на развитие экспериментальной чумы у белых мышей

В противочумной практике для выделения возбудителя чумы и дальнейшего изучения эпизоотического процесса используются восприимчивые к этой инфекции подопытные животные: белые мыши и морские свинки. Но иногда для выявления скрытых очагов чумы, где могут существовать грызуны с латентной формой заболевания и при наличии слабовирулентных штаммов возбудителя чумы в природе, в некоторых случаях обычные методы биологических исследований не дают желаемого результата. Имея в виду это обстоятельство, советские и зарубежные исследователи [1—19] в последние годы применяли методы снижения резистентности и повышения чувствительности биопробных животных к инфекциям. А. Г. Кратинев и др. показали, что недостаток витамина С повышает чувствительность организма к различным инфекциям. Бактерии чумы размножаются у авитаминозных морских свинок гораздо быстрее, чем в организме нормальных животных. С целью снижения резистентности организма биопробных животных применялось также охлаждение животных и их голодание.

Работами Сели, Лемон, Де Ламатер, Сурино и Урбах, Кавалеро, Робинсон и Смитт, П. Ф. Здравовского и др. показана важнейшая роль гормонов коры надпочечника, в частности кортизона, в снижении резистентности организма к различным возбудителям. При этом ускоряется развитие инфекционного процесса в организме, что приводит к септицемии и укорачивает сроки жизни подопытного животного.

Работами Пайна, Ларсона, Валькера, Фостера и Мейера установлено, что при введении даже авирулентных штаммов возбудителя чумы у белых мышей при воздействии кортизона развивается септицемия и ускоряется гибель животных.

Аналогичные данные получены также Бляхером, Акимович и Доброцветовой, Ширяевым, Лалазаровым и др. у кортизонированных животных при введении авирулентных и вирулентных штаммов чумного микроба.



Покровской и Бляхером была разработана специальная инструкция по применению кортизона у животных для выяснения «остаточной инфекциозности» в затухающих очагах чумы. По данным Казакевича, Минкова, Сидорова, применяющих кортизон для выявления чумной инфекции в организме малых сусликов, выяснилось, что введение препарата резко повышало чувствительность малых сусликов к чумному микробу. На основании своих опытов Штельман приходит к выводу, что у полуденных песчанок при пассировании их органов через организм мышей, получивших кортизон, более чем у 10% удастся выявить латентную чумную инфекцию и ускорить ее диагностику на 2—7 суток.

Кроме вышеуказанных методов повышения чувствительности подопытных животных к чумным микробам в практике применяются и другие препараты: новоэмбихин, гистамин, трипановая синь, куриный желток и другие.

В лаборатории Армянской противочумной станции мы занялись изучением влияния новоэмбихина, куриного желтка и гистамина на организм белых мышей и морских свинок при чумной инфекции.

В настоящем сообщении приводятся результаты изучения влияния новоэмбихина на развитие чумной инфекции у белых мышей. В доступной нам литературе не удалось найти работ, освещающих этот вопрос. В наших опытах мы попытались выяснить влияние новоэмбихина на течение экспериментальной чумы у белых мышей, вызванной различными дозами слабовирулентных и авирулентных штаммов чумного микроба. В работе использован отечественный новоэмбихин (эмбихин № 7).

Новоэмбихин—новый лечебный препарат из группы хлорэтиламинов. В последнее время он довольно широко применяется при лечении лимфогранулематоза, хронических лейкозов и эритремии.

Ларионовым, Ждановым, Папомяном, Малюгиной и др. установлено, что при применении эмбихина у животных наблюдается падение числа лейкоцитов периферической крови, достигающее нередко до 1000 и ниже, главным образом, за счет уменьшения гранулоцитов. В костном мозге происходит резкая аплазия, исчезают почти все зрелые и молодые формы гранулоцитов, сохраняются только ретикулярные клетки, часть миелобластов и эритробластов. В селезенке резко аплазируется пульпа и в несколько меньшей степени—фолликулы. То же происходит и в фолликулах лимфатических узлов. По степени чувствительности к эмбихину первое место занимает гранулопоэз, второе—лимфопоэз и менее чувствительным является эритропоэз (Ларионов).

Наши опыты с применением новоэмбихина ставились в январе-феврале 1961 г. на белых мышах весом от 18 до 25 г. Экспериментальному заражению были подвергнуты 250 белых мышей и 33 морские свинки. Новоэмбихин разводился непосредственно в момент заражения. Раствор новоэмбихина белым мышам вводили подкожно в правую паховую область в 0,3 мл, что составляет 0,3 мг сухого вещества. Одновременно в левую паховую область подкожно вводили эмульсию чумного микроба



в объеме 0,2 мл, содержащую разное количество микробных тел (от 1 до 1 млн.).

В работе были использованы суточные культуры чумного микроба 107, 110 и EV.

Культура *B. pestis* 107 была выделена 11/V 59 г. из органов обыкновенных полевок (*M. agvalis*) на территории Северо-Западной Армении. Штамм *B. pestis* 110 был выделен 9/V 1959 г. из органов трупа обыкновенных полевок на той же территории. Изучение вирулентности указанных 2 штаммов показало, что они слабо вирулентны для морских свинок и несколько более вирулентны для белых мышей. Авирулентный штамм EV нами получен из Научно-исследовательского противочумного института Кавказа и Закавказья.

Белые мыши после заражения содержались в лаборатории до 15 дней. Если в течение этого срока мыши не погибали, то на 15-й день они подвергались хлороформированию и бактериологическому исследованию. Органы павших и убитых мышей высеивались на агаровые пластинки с солью Мора и генцианвиолетом. Посевы производились из места введения культуры, лимфатических узлов, печени, легких, крови и селезенки. Параллельно производились мазки-отпечатки из органов биопробных животных.

В первой серии опыта использован штамм чумного микроба 107, которым заражено 90 белых мышей; половина мышей получила новоэмбихин с чумной культурой, а вторая, контрольная половина, — только культуру. Результаты заражения белых мышей штаммом 107 представлены в рис. 1.

37 из 45 мышей (82,4%), получивших новоэмбихин с культурой, пали в течение 4 суток от чумной септицемии. Из 45 контрольных мышей, получивших только разные дозы чумной культуры, пали от чумы 19 (42,2%). Таким образом, мыши, получившие культуру с новоэмбихином, пали от чумы вдвое больше, чем контрольные. Действие новоэмбихина на белых мышей более наглядно при заражении малыми дозами, так: мыши, зараженные эмульсией 1, 5, 10, 50, 100 м. кл. с новоэмбихином, от чумной инфекции пали втрое больше [18], чем от тех же доз в контрольной группе [6]. При больших дозах заражения разница с контрольными, как и следовало ожидать, уменьшается. Кроме этого, наблюдается резкое различие в средней продолжительности жизни. Мыши, получившие новоэмбихин, пали от чумы с выделением культуры в течение 4 суток — средняя продолжительность жизни равнялась 3 суткам. Контрольные мыши погибли от чумы на 3—10 сутки. Средняя продолжительность жизни составляла 6 суток. При заражении малыми дозами разница более резкая. Если мыши, получившие новоэмбихин, пали в основном на 3 сутки, то контрольные — на 9 сутки после заражения.

Важным фактом является и то, что мыши, которым введен новоэмбихин и культура, пали от чумной септицемии; на вскрытии почти из всех внутренних органов животных была выделена культура, а от части



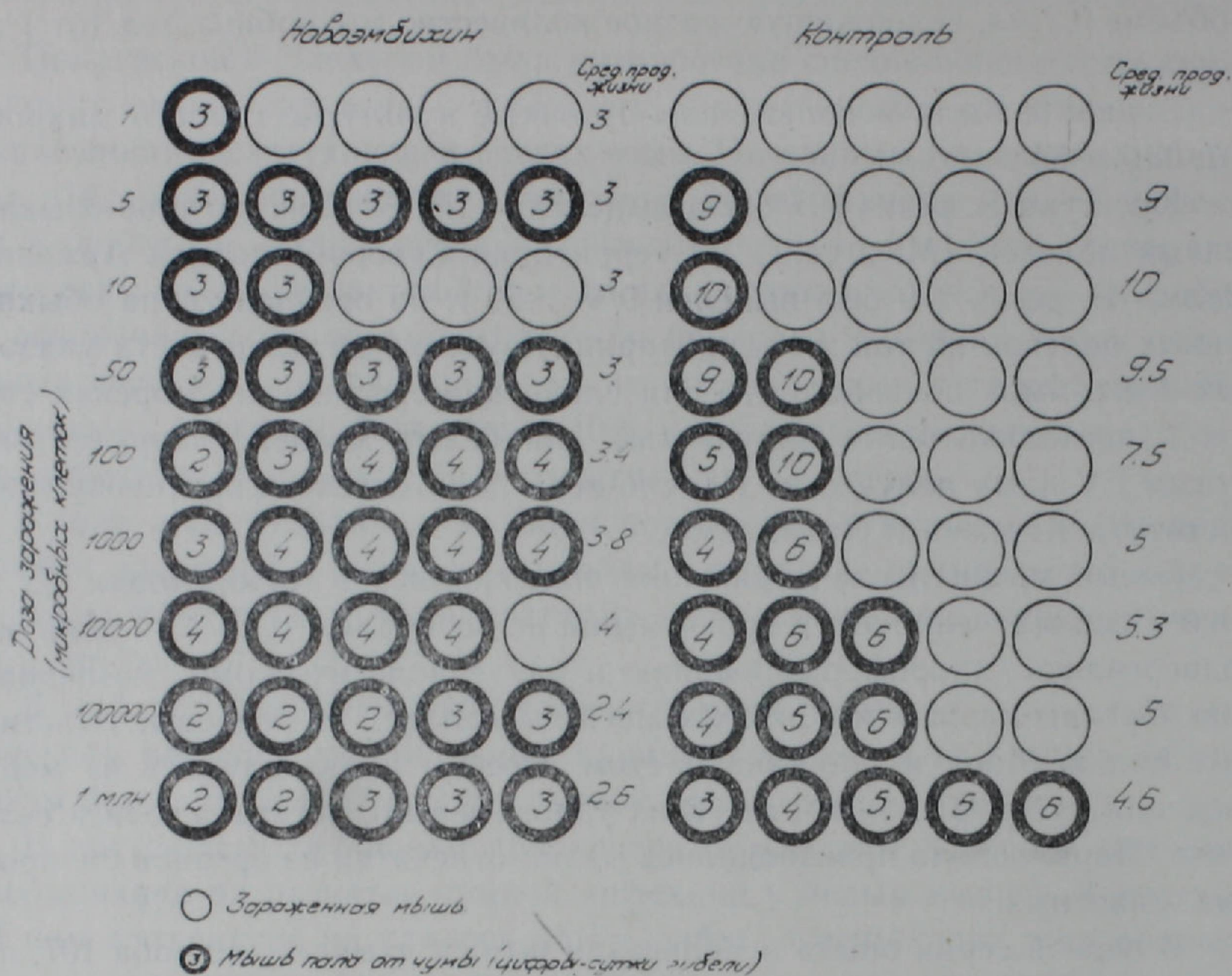


Рис. 1. Результаты заражения белых мышей штаммом чумного микроба 107.

контрольных, зараженных малыми дозами возбудителя чумы, культура была выделена лишь из места введения и лимфатических узлов.

Вторая серия опытов поставлена с культурой чумного микроба 110 (рис. 2).

Из 45 мышей, получивших новоэмбихин и культуру, пали от чумы 20, т. е. 44,4%. Из 45 контрольных животных пали 12 (26,6%). Сравнительные данные контрольных групп обеих таблиц показывают, что чумной штамм 107 для белых мышей более вирулентен, чем штамм 110. При заражении малыми дозами (до 100 м. кл.) штамм 107 вызывает в 3 раза больше гибель животных, чем штамм 110. Тем не менее малые дозы заражения штаммом 110 в сочетании с новоэмбихином по сравнению с контрольными вызвали в 4 раза больше гибель животных. Большая разница наблюдается и при учете сроков гибели животных. При применении новоэмбихина средняя продолжительность жизни равняется 3,5 суток, в контрольной группе она составляет 7,4 суток.

Кроме указанных штаммов, опыты ставились также и с авирулентным чумным штаммом EV. Всего заражено было 60 мышей дозами 10 000, 100 000 и 10 млн. м. кл.; 30 мышам был введен новоэмбихин с культурой EV, а контрольные мыши (30) получили только культуру EV. Из 30 белых мышей, которым были введены новоэмбихин и культура, 15 пало от чумы с выделением культуры на 3, 4, 5 сутки после заражения. Контрольные животные, зараженные только штаммом EV, выжили в 100% (рис. 3).



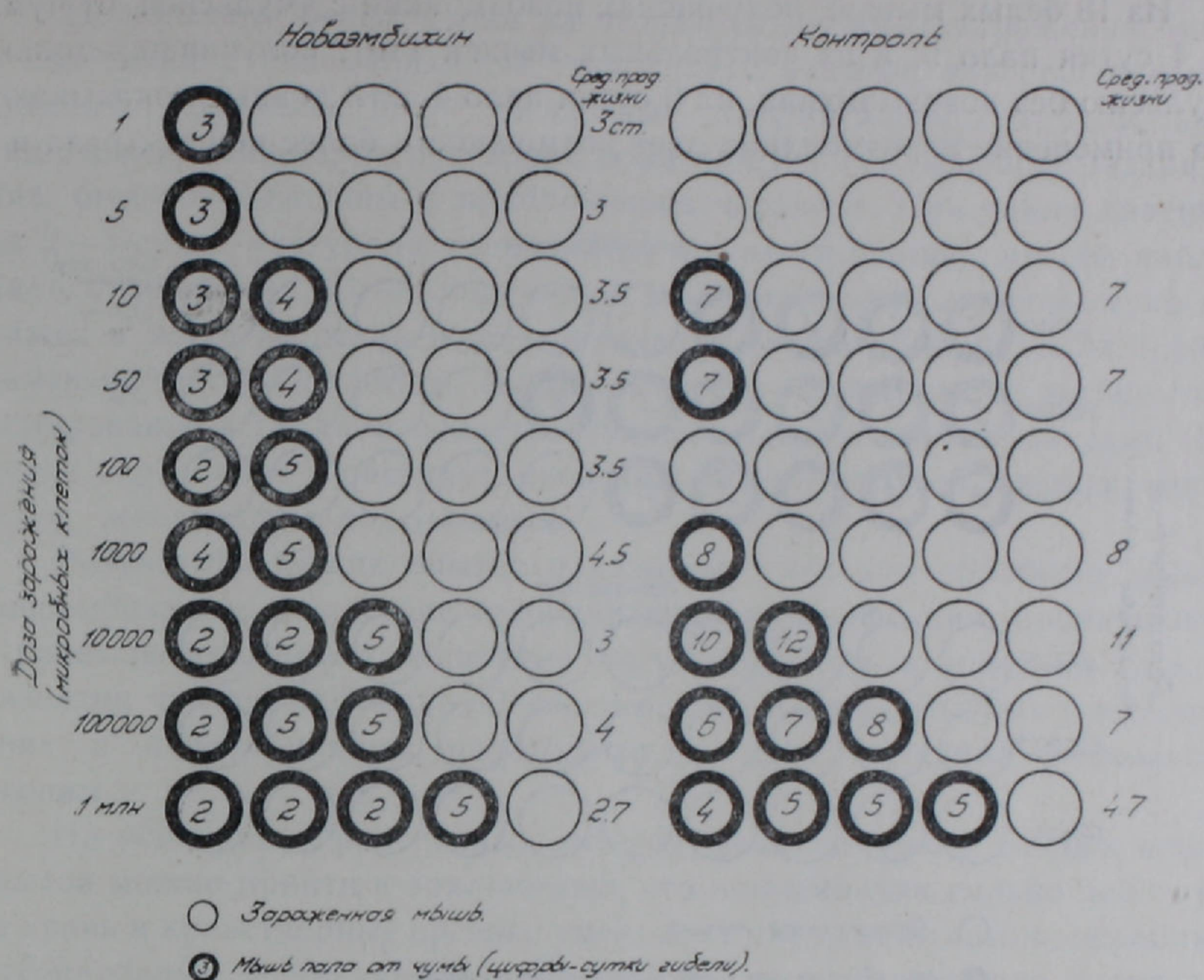


Рис. 2. Результаты заражения белых мышей штаммом чумного микроба 110.

Выжившие мыши через 15 дней после заражения были забиты и исследованы с отрицательными результатами.

Имея в виду, что штамм 107 слабовирулентен для морских свинок, мы поставили перед собой задачу экспериментально проверить эффект применения новоэмбихина с целью выявления латентной инфекции в организме морских свинок. Для выяснения этого вопроса нами культурой 107 заражалось 18 морских свинок дозами 100, 1000, 10 000, 100 000, 1 млн. и 10 млн. м. кл. (по 3 свинки для каждой дозы).

На 7-й день после заражения пала одна свинка, получившая 10 млн. м. кл., с выделением чумной культуры. Через 15 дней оставшихся в живых 17 морских свинок подвергли вскрытию. При вскрытии не наблюдалось характерных для чумы патологоанатомических изменений во внутренних органах, только в одном случае у свинки, получившей 1000 000 м. кл., была выделена культура чумы. Посевы органов остальных свинок на питательных средах остались стерильными. Если бы не положительные результаты пассирования на белых мышях, получивших новоэмбихин, мы считали бы этих свинок выздоровевшими.

Для выяснения наличия латентной инфекции в организме свинок из внутренних органов была приготовлена густая эмульсия, соответственно от каждой группы заражения, которая в объеме 0,3 мл вводилась подкожно 18 мышам с новоэмбихином и 18 мышам без новоэмбихина (по 3 на каждую группу).



Из 18 белых мышей, получивших новоэмбихин с эмульсией, от чумы на 4 сутки пало 9, а из контрольных мышей (18), получивших только эмульсию без новоэмбихина, на 6 сутки пало 4. Эти данные показывают, что применение новоэмбихина дает возможность более чем в 2 раза и в

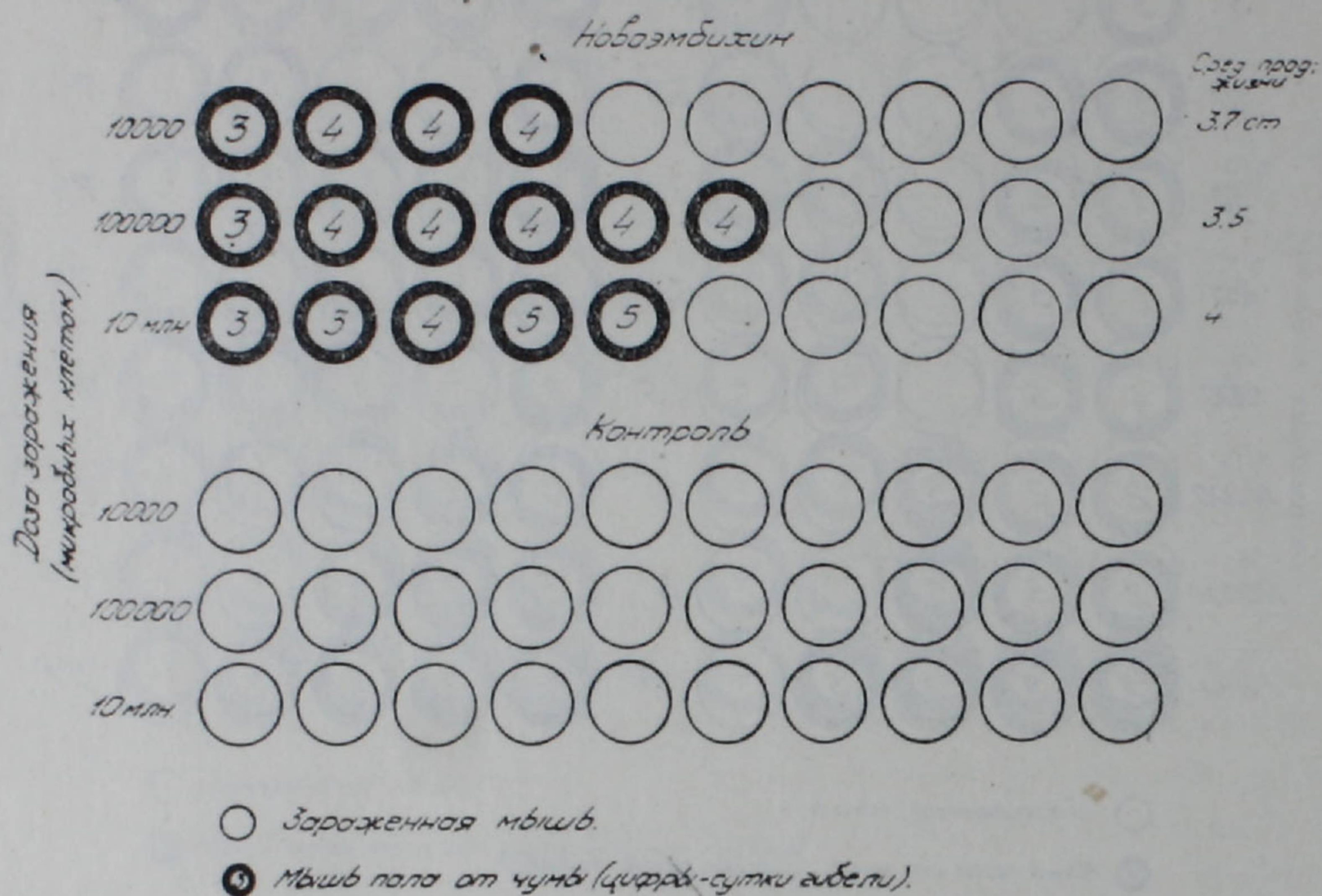


Рис. 3. Результаты заражения белых мышей штаммом чумного микроба EV.

значительно более короткий срок выявить латентную инфекцию в организме животных (рис. 4).

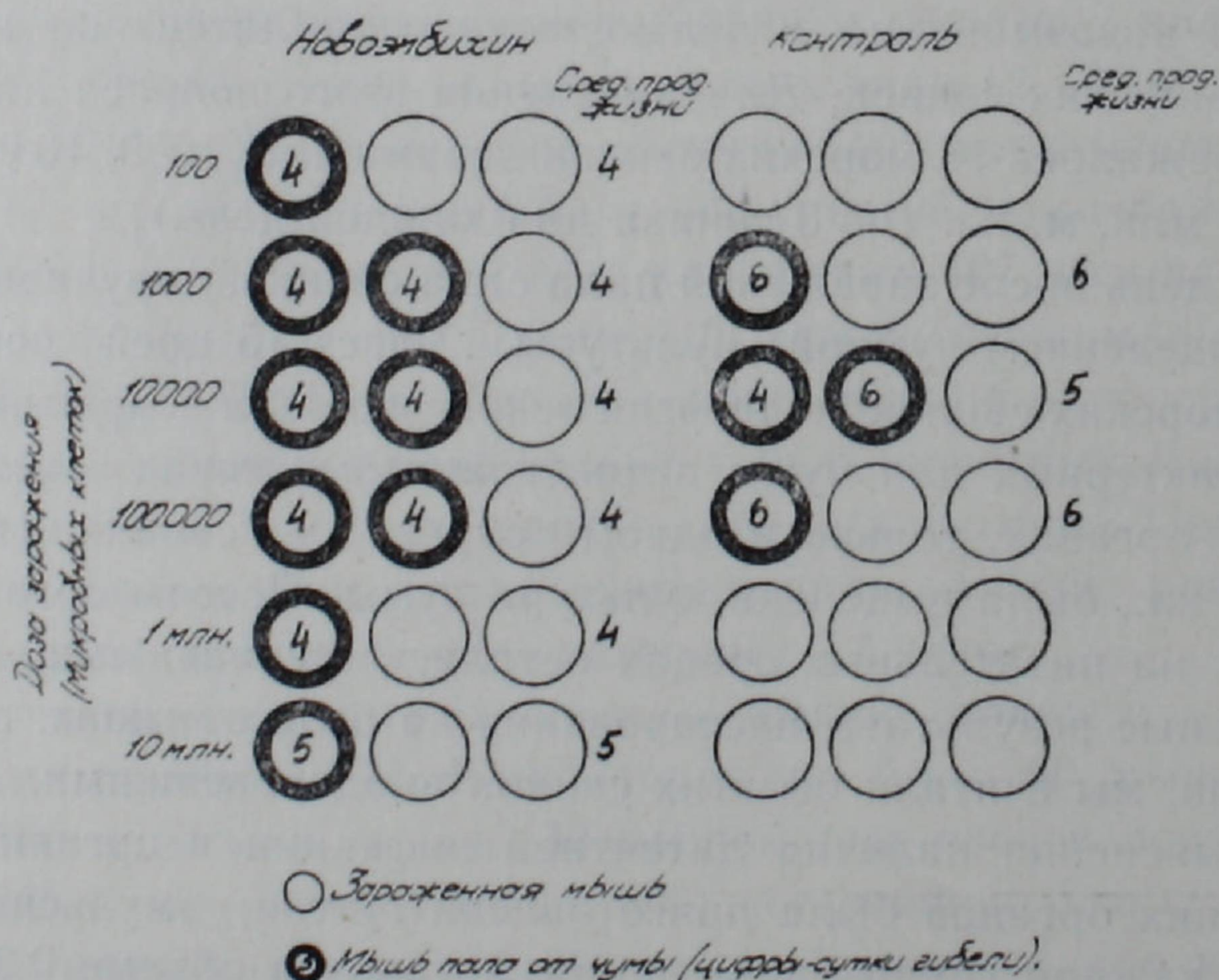


Рис. 4. Результаты заражения белых мышей эмульсией органов морских свинок, латентно переносящих чумную инфекцию.



Подопытные белые мыши на вторые сутки после заражения чумой в сочетании с новоэмбихином становились вялыми, взъерошенными и грязными, появился понос. Животные передвигались с трудом, чаще сидели неподвижно, не реагировали на пищу и окружающие раздражения, были безразличны к приближению человека. При таких явлениях на 2—5 сутки наступала смерть. При вскрытии павших мышей наблюдалась гиперемия и отек подкожной клетчатки, отек особенно ярко выражен в месте введения новоэмбихина. В лимфатических узлах особых изменений не наблюдается, селезенка резко атрофирована, легкие гиперемированы, в грудной полости отмечен геморрагический экссудат. Желудок переполнен и растянут, кишечник вздут, заполнен жидким, слизистым, желтоватым содержимым.

Результаты наших опытов показывают, что при обработке мышей новоэмбихином вследствие генерализации аутоинфекции, проникающей в кровь из кишечника, животные могут погибнуть в короткий срок до развития чумной инфекции. В связи с этим в лабораторных исследованиях с новоэмбихином необходимо вводить материал нескольким мышам.

На основании приведенных литературных данных и данных наших опытов можно прийти к заключению, что новоэмбихин сильно действует на кровь и кроветворные органы, уменьшает число лейкоцитов, ослабляет фагоцитарную функцию организма. Подавляет образование антител и ослабляет переваривающую функцию макрофагов. Создается условие беспрепятственного размножения и инвазирования возбудителя чумы в организме.

Еще в 1947 г. Покровская и Каганова на основании цитологического метода изучения показали огромное значение состояния ретикулоэндотелиальной системы, играющей большую роль в борьбе организма с инфекцией, а также ведущую роль фагоцитоза в противочумном иммунитете. Резкое подавление ретикулоэндотелиальной системы под влиянием новоэмбихина, вероятно, имеет огромную роль в понижении сопротивляемости организма к чумной инфекции. Вследствие введения новоэмбихина мыши становятся исключительно чувствительными к чумной инфекции.

Выключение фагоцитоза создает условия для быстрого размножения и повышения инвазивности чумного микроба в организме. Животные погибают от чумной септицемии в короткий промежуток времени. Так, мыши получившие новоэмбихин с культурой, пали от чумы, начиная со 2—5 суток, а мыши, не получившие новоэмбихина, пали на 4—12 сутки. По причине быстрой генерализации инфекционного процесса у павших мышей во внутренних органах не наблюдается характерных для чумы патологоанатомических изменений.

Действие новоэмбихина более ярко выражено при заражении мышей малыми дозами чумной культуры и при применении слабовирулентных и авирулентных штаммов. В наших опытах даже культура EV при введении новоэмбихина оказалась смертельной в 50%. Кроме этого, при при-



менении новоэмбихина имеется возможность выявления латентной чумной инфекции у животных.

Указанные преимущества новоэмбихина дают возможность использовать его для подавления защитных функций организма и рекомендовать метод обработки биопробных животных новоэмбихином, с целью улучшения бактериологической диагностики при исследовании материала, подозрительного на зараженность возбудителем чумы.

Обследования, проведенные на некоторых вяло протекающих эпизоотических очагах чумы, показали, что при выявлении остаточной инфекциозности очага, где в исследуемом материале содержится малое количество чумного микроба, или микроб обладает пониженной вирулентностью, использование мышей с нормальными защитными реакциями не обеспечивает получение желаемых результатов.

Многолетние обследования грызунов и эктопаразитов, проведенные Армянской противочумной станцией на территории Армении с целью выявления чумной инфекции в природе, до 1958 г. не дали положительных результатов. Только осенью 1958 г. на территории Северо-Западной Армении от грызунов и блох была выделена чумная культура. Чумная культура из указанной территории была выделена и в 1959 г., но выделенные культуры были слабовирулентными; разлитой эпизоотии среди грызунов не наблюдалось.

Несмотря на тщательное обследование со второй половины 1959 г. и в течение всего 1960 г. из этих территорий обычными методами исследования не удалось выделить чумную культуру. Поэтому на основании проведенных опытов рекомендуем при бактериологических исследованиях чумы как в эпидотрядах, так и в стационарных лабораториях широко использовать новоэмбихин, который резко снижает защитные функции организма животных, давая возможность выявить в природе даже латентную чумную инфекцию, тем более, что по технике применения этот метод несложен.

Армянская противочумная станция

Министерства здравоохранения СССР

Поступило 22.V 1961 г.

Վ. Ն. ԶԻԼՖՅԱՆ, Ա. Վ. ՆՈՐԱՄԻՐՅԱՆ

ՄԻ ՔԱՆԻ ԴԵՂԱՆՅՈՒԹԵՐԻ ԱԶԴԵՅՈՒԹՅՈՒՆԸ ԺԱՆՏԱԽՏԻ ՀԱՐՈՒՅԻՉԻ  
ՀԱՆԴԵՊ ԼԱՔՈՐԱՏՈՐ ԿԵՆԴԱՆՆԵՐԻ ԶԳԱՅՆՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ

Հաղորդում 1.

Ապխալկ մկների մոտ էֆալերիմենտալ ժանտախտի զարգացումը նոստերիսիսի ազդեցությամբ

Ա. մ ֆ ո լ լ լ

Լաբորատոր հետազոտությունների ժամանակ վերջերս օգտագործում են մի շարք սրեպարատներ, որոնք բարձրացնում են փորձնական կենդանիների զգայնությունը վարակիչ հիվանդությունների հանդեպ: Ժանտախտի հարուցիչի



հանդեպ սպիտակ մկների դիմադրողականությունն իջեցնելու համար մենք օգտագործել ենք նովոէմբիխին պրեպարատը: Փորձերը դրվել են 280-ից ավելի փորձակենդանիների վրա: Վարակումը կատարվել է ժանտախտի թույլ վիրուլենտություն ունեցող շտամներով:

Նովոէմբիխինի ազդեցության հետևանքով սպիտակ մկները ժանտախտի սեպտիցեմիայից ընկնում են 2—3 անգամ ավելի կարճ ժամանակամիջոցում, քան այն կենդանիները, որոնք չեն ստացել նովոէմբիխին: ժանտախտի հարուցիչի 107 շտամով վարակման և պրեպարատի սրսկման դեպքում, ժանտախտից ընկել է կենդանիների 82,4% -ը, իսկ առանց նովոէմբիխինի օգտագործման՝ 42,2% -ը: Հարուցիչի 110 շտամով վարակման դեպքում համապատասխանորեն ընկել են 44,4% -ը և 26,6% -ը: Լրիվ ավիրուլենտ EV շտամով վարակման դեպքում, տվյալ պրեպարատն ստացած կենդանիների 50% -ը ընկել է ժանտախտից, իսկ նովոէմբիխին չստացածները բոլորն էլ մնացել են կենդանի: Նովոէմբիխին կիրառելու դեպքում հնարավոր է նաև ծովախոզուկների մոտ հալանաբերել լատենտ բնթացող ժանտախտի ինֆեկցիան:

Նովոէմբիխինը խիստ զցում է սպիտակ մկների դիմադրողականությունը, թուլացնում է օրգանիզմի ֆագոցիտար ֆունկցիան, որով և նպաստում է ժանտախտի հարուցիչների արագ թափանցմանը և տարածմանը օրգանիզմի մեջ:

Ժանտախտի բակտերիոլոգիական ախտորոշումն արագացնելու և ավելի բարելավելու նպատակով, անհրաժեշտ է կենդանիների նովոէմբիխինային վերամշակման հիշյալ մեթոդը լայնորեն կիրառել լաբորատոր պրակտիկայում:

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Акимович В. В., Доброцветова Г. Я. Влияние кортизона, дезоксикортикостерона и адренкортикостропного гормона на развитие экспериментальной чумы у белых мышей. Труды Института «Микроб», Саратов, 1960, в. 4.
2. Бляхер С. Л. Использование мышей, находящихся под действием кортизона, в качестве экспериментальной модели для изучения штаммов *B. pestis* с пониженной вирулентностью. ЖМЭИ, 1958, 7.
3. Жданов Г. Л. Действие эмбихина на кровь и кроветворные органы, Новости медицины, 1950, в. 18.
4. Здрадовский П. Ф. Некоторые итоги современных исследований в области инфекционной патологии и иммунологии, ЖМЭИ, 1957, 11.
5. Казакевич В. П., Минков Г. Б., Сидорова Н. К. Применение кортизона для выявления чумной инфекции в организме малых сусликов. ЖМЭИ, 1960, 2.
6. Кратинев А. Г. и Харькова Н. М. Содержание аскорбиновой кислоты в органах грызунов при чумной интоксикации. Труды Научно-исслед. противочумного института Кавказа и Закавказья, Ставрополь, 1959, в. 3.
7. Ларионов Л. Ф. Препарат эмбихин, его действие и методика лечебного применения. Новости медицины (Вопросы онкологии), 1950, в. 18.
8. Ларионов Л. Ф. О препарате новоэмбихина. Советская медицина, 1956, 8.
9. Малюгина Л. Л. Некоторые данные о действии эмбихина на организм животных, там же.
10. Папоян С. А. Действие эмбихина № 7 на кроветворение и его пригодность при лечении лейкозов. Изв. АН АрмССР, 1950, т. 5, № 10.
11. Покровская М. П., Каганова Л. С. Цитологический метод изучения механизма иммунитета. Свердловск, 1947.



12. **Ширяев Д. Т., Лалазаров Г. А., Ворона И. М., Мелашенко Л. К.** К вопросу о возможности применения кортизона в обследовательской работе противочумных лабораторий. Тр. Армянской противочумной станции, Ереван, 1960, в. 1.
13. **Штельман А. И.** К вопросу о применении кортизона для поисков латентной чумной инфекции. Сообщение 1, ЖМЭИ, 1960, 2.
14. **Cavallero C. B.** Connective tissue in Health and Disease. Copenhagen, 1954.
15. **De Lamater E. D., Saurino V. R., Urbach F.** Studies on the immunology of Spirochetoses. i. Effect of cortisone on experimental Spirochetoses. Zentralblatt f. Bakteriolog. etc. Ref., 1954. B. 153. H. 21/24, S. 529.
16. **Lemond H. M.** Y Infect. Dis 1952, v. 90.
17. **Payne F. E., Larson A., Walker D. L., Foster D. A., Mayer K. F.** Studies on immunization against plague. IX. The effect of cortisone on mouse resistance to attenuated strains of Pasteurella pestis. Zentralblatt i. Bakteriolog. etc. L. Abt., Ref., 1956, Bd. 160, H. 1/3, s. 3.
18. **Robinson H. I., Smith A. L.** Влияние гормонов коры надпочечника на течение экспериментальной инфекции. РЖ „Биология“, 1955, № 2, реф. 7329.
19. **Salve H.** The physiology and pathology of Exposure to stress, 1960.