

ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

Б. П. КАРАБЕКОВ

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА НЕКОТОРЫХ МЕТОДОВ
РЕГЕНЕРАЦИИ ФИЛЬТРУЮЩИХСЯ ФОРМ БАКТЕРИЙ
БРЮШНОГО ТИФА И ДИЗЕНТЕРИИ

Успех в работе с фильтрующимися формами бактерий в значительной степени зависит от совершенства методов, применяемых для их регенерации, так как о наличии фильтрующихся форм можно судить косвенно, путем выявления вторичного роста.

В настоящем сообщении приводятся результаты исследования 117 фильтратов брюшнотифозных и дизентерийных культур, проведенного параллельно несколькими методами регенерации фильтрующихся форм с целью их сравнительной оценки.

В качестве исходных культур были использованы музейные штаммы «2-t. abd.» и «6-Флекснер», а также местный брюшнотифозный штамм «18-t. abd.», типичные по всем своим свойствам.

Для получения фильтрующихся форм указанных бактерий были применены следующие факторы воздействия: 1. облучение в конденсаторном поле УВЧ (мощность аппарата 50W, длина волны облучения—6 м) в течение различного времени (от 10 мин. до 5 ч.); 2. кипячение в водяной бане в течение 5—15 мин.; 3. длительное выращивание и хранение без пересевов бульонных и агаровых культур (от 7 до 65 дней) в различных температурных условиях (в термостате и в комнатных условиях); 4. общепринятое выращивание бульонных и агаровых культур в термостате в течение 18—24 ч.

Фильтрация взвесей культур производилась через асбестовые фильтры Зейтца марки «СФ» при отрицательном давлении 660—760 мм ртутного столба не более чем в течение 1 ч.

Для выявления фильтрующихся форм в фильтратах последние параллельно исследовались следующими методами регенерации.

1. Посев испытуемого материала в свежие куриные яйца: 0,5 мл фильтрата вводилось шприцем в желток неоплодотворенного куриного яйца, скорлупа которого с тупого конца трижды обрабатывалась спиртом с иодом и фламбировалась. Каждым фильтратом одновременно заражались 3 яйца. Зараженные яйца инкубировались в термостате при 37° 1—15 дней и затем через каждые 5 дней вскрывались, а содержимое их засевалось в желчный бульон, из которого через каждые 2—3 дня производились высевы для выявления вторичного роста. В качестве

контроля служили незараженные яйца и яйца, в которые вводилось 0,5 мл стерильного мясопептонного бульона.

2. Длительное культивирование в течение 3 месяцев в следующих средах: а) в обычном мясопептонном бульоне, который одновременно служил контролем стерильности фильтрата; б) в желчном бульоне, обогащенном желтком куриного яйца, из расчета 4 желтка на 500 мл бульона; в) в мясопептонном бульоне, обогащенном желтком куриного яйца из того же расчета; г) желточном бульоне.

3. Культивирование испытуемого материала в желчном и мартеновском бульоне совместно с «кормилкой», в качестве которого применялся штамм желтой сарцины.

4. Длительная инкубация фильтрата в течение 1—3 месяцев в термостате с целью «созревания» фильтрующихся форм, имеющихся в нем (Г. П. Калина).

5. Длительная инкубация фильтрата и последующее его изучение методом посева в куриные яйца. В каждом отдельном случае контролем служила среда, в которую фильтрат не добавлялся. Появление вторичного роста контролировалось периодическими серийными посевами.

Результаты исследованных 117 фильтратов представлены в табл. 1.

Полученные данные свидетельствуют о большей эффективности метода выращивания в неоплодотворенных яйцах по сравнению с други-

Таблица 1

Факторы воздействия	Методы регенерации								
	Посев в свежие куриные яйца	«Кормилка»		Длительное выращи- вание в средах				Длительная инку- бация фильтрата для созревания	Длительная инкубация фильтрата с после- дующим посевом в яйца
		на желч- ном буль- оне	на марге- новском бульоне	МПБ	желточный бульон	МПБ с желтком яйца	желчный бульон с желтком яйца		
Облучение УВЧ	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	16	16	16	16	16	16	16	16	16
Кипячение в водяной бане	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	3	3	3	3	3	3	3	3
«Старение»	34	0	2	1	9	3	2	2	2
	76	76	76	76	76	76	76	76	76
18—24-часовые культуры	13	0	0	0	0	0	0	0	0
	22	22	22	22	22	22	22	22	22
	50	0	2	1	9	3	2	2	2
Всего	117	17	117	117	117	117	117	117	117
% обнаружения к об- щему количеству ис- следованных фильтра- тов	42,8	0	1,7	0,85	7,7	2,6	1,7	1,7	1,7

Примечание: в числителе — количество выделенных вторичных культур, в знаменателе — количество исследованных фильтратов.

ми примененными нами методами. Из 117 исследованных этим методом фильтратов выделено 50 вторичных культур, что составляет 42,8% по отношению к общему числу исследованных фильтратов. Наименее эффективными по данным исследования оказались метод «кормилок», длительная инкубация фильтратов и длительное выращивание фильтратов в МПБ, МПБ и желчном бульоне, обогащенных желтком куриных яиц, и в желточном бульоне. Из 117 фильтратов, исследованных всеми этими методами вместе, выделена всего 21 вторичная культура.

Однако нужно отметить, что среди этих методов лучшие результаты получены при длительном выращивании фильтратов в желточном бульоне. Этим методом регенерировано 9 вторичных культур (7,7%).

Подводя итоги данных регенерации фильтрующихся форм брюшнотифозных и дизентерийных бактерий при разбираемых методах, обнаруживаем в целом их малую эффективность. Даже наиболее эффективный из этих методов—метод выращивания в куриных яйцах—не всегда дает одинаковые результаты и не обеспечивает более высокий процент обнаружения фильтрующихся форм.

Совпадение результатов при исследовании одного и того же фильтрата различными методами получено всего в семи случаях, причем одновременно всеми методами—в одном случае, 2 параллельными методами—в 4 случаях, 3 методами—в одном случае, 4 методами—в одном случае. Эти данные позволяют считать, что регенерация фильтрующихся форм брюшнотифозных и дизентерийных бактерий упомянутыми методами носит незакономерный характер и, несмотря на значительное количество произведенных серийных высевок, процент совпадения результатов крайне незначительный.

С практической, а также научной точек зрения большой интерес представляет время появления вторичного роста и характер выделяемых вторичных культур, их сходство с исходными штаммами.

Многочисленные литературные данные, касающиеся этих вопросов, в основном свидетельствуют, что регенерация фильтрующихся форм наступает сравнительно поздно. Вторичные культуры выделяются в лучшем случае на 10—15-й дни исследования, а чаще и много позже, и по своим основным свойствам мало похожи на исходные штаммы. Последнее обстоятельство резко затрудняет возможность отнесения выделяемых культур за счет регенерации фильтрующихся форм исходного штамма. Поэтому определенный интерес представляет вопрос—какой из методов регенерации обеспечивает быструю регенерацию фильтрующихся форм и полное восстановление исходных свойств вторичными культурами.

С этой точки зрения оценка методов регенерации, примененных нами, показала, что сроки наступления вторичного роста при регистрации довольно значительны и колеблются в пределах от 10 дней до 2 месяцев.

В табл. 2 показано время выделения вторичных культур при исследовании фильтратов наиболее эффективным из примененных нами методов—методом выращивания в свежих куриных яйцах.

Таблица 2

Дни исследования	5	10	20	30	40	60	90
Количество вторичных культур	0	5	13	20	11	1	0

Наибольшее количество вторичных культур выделено на 30-й день исследования. Такие значительные сроки, требуемые для регенерации фильтрующихся форм, еще раз подтверждают несовершенство применяемых методов и невозможность их использования в настоящее время в практических целях.

Выделенные нами вторичные культуры в основном по своим биохимическим и серологическим свойствам резко отличались от исходных штаммов. Так, например, из 71 вторичной культуры только 19 соответствовали по своим свойствам исходным штаммам, тогда как остальные 52 штамма более или менее значительно отличались от исходных. Среди последних встречались как инертные в биохимическом и серологическом отношении, так и проявляющие значительную ферментативную и серологическую активность.

Результаты исследования показали, что наибольшее количество типичных вторичных культур, соответствующих по своим свойствам исходному штамму, выделено методом культивирования фильтратов в свежих куриных яйцах (табл. 3).

Таблица 3

Методы регенерации	Вторичные культуры		
	число регенериров. типичных культур	число атипичных культур	отношение типичных к атипичным
Метод выращивания в яйцах	13	37	1:2,84
Метод „кормилки“	1	1	1:1
„ длительного выращивания в различных средах	4	11	1:2,75
„ длительной инкубации фильтратов	1	3	1:3
Всего	19	52	1:2,79

Именно этим методом регенерировано наибольшее количество вторичных культур, и, если сравнивать соотношение типичных и атипичных вторичных культур, выделенных при других методах исследования, станет очевидно, что соотношение это при всех методах регенерации почти одинаковое (табл. 3). На одну типичную вторичную культуру приходится примерно 3 атипичных культуры. Это обстоятельство позволяет расценивать примененные нами методы регенерации как мало эффективные с точки зрения их восстановительной способности.

Подводя итоги всего вышеизложенного, можно прийти к следующему заключению:

1. Регенерация фильтрующихся форм бактерий брюшного тифа и дизентерии методом «кормилки», длительного выращивания в питательных средах и методом длительного выдерживания фильтратов с последующим их культивированием в питательных средах и свежих куриных яйцах мало эффективна.

2. Хорошие результаты получены методом выращивания в свежих куриных яйцах, хотя и в этом случае не обеспечивается достаточно высокий процент обнаружения фильтрующихся форм.

3. Регенерация фильтрующихся форм тифозных и дизентерийных бактерий всеми упомянутыми методами длится продолжительное время, а выделяемые вторичные культуры в значительном количестве случаев оказываются несоответствующими по своим свойствам исходным штаммам.

4. Полученные результаты не согласуются с представлением о фильтрующихся формах, как о закономерной стадии развития бактерий.

Лаборатория микробиологии

Института эпидемиологии и гигиены

Министерства здравоохранения АрмССР

Поступило 10.IV 1959 г.

Բ. Պ. ԿԱՐԱՔԵԿՈՎ

ՈՐՈՎԱՅՆԱՅԻՆ ՏԻՖԻ ԵՎ ԴԻԶԵՆՏԵՐԻԱՅԻ ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ՖԻԼՏՐՎՈՂ ՁԵՎԵՐԻ ՌԵԳԵՆԵՐԱՑԻԱՅԻ ՄԻ ՔԱՆԻ ԵՂԱՆԱԿՆԵՐԻ ՀԱՄԵՄԱՏԱԿԱՆ ԳՆԱՀԱՏԱԿԱՆՐ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Տվյալ հաղորդման մեջ բերված են որովայնային տիֆի և դիզենտերիայի բակտերիաների կուլտուրաներից ստացված 117 ֆիլտրատների զուգահեռ լուսամանսիրովյան արդյունքները, նշված բակտերիաների ֆիլտրվող ձևերի ռեգեներացիայի եղանակներով:

Կատարված հետազոտությունների հետևանքով 117 ֆիլտրատից անջատվել է 71 «երկրորդային» կուլտուրա, ընդ որում ամենից արդյունավետը հանդիսացել է թարմ ձվի դեղնուցի մեջ աճեցման եղանակը: Այս եղանակով ռեգեներացվել է 50 «երկրորդային» կուլտուրա: Քիչ արդյունավետ եղան «կորմիլկայի» ու երկարատև աճեցման եղանակները: Վերջիններիս մեջ ամենաարդյունավետը հանդիսացավ դեղնուցային բուլիոնում ֆիլտրատների երկարատև աճեցումը (9 «երկրորդային» կուլտուրա):

Որովայնային տիֆի և դիզենտերիայի բակտերիաների ֆիլտրվող ձևերի տարբեր եղանակներով ռեգեներացիայի տևական է, իսկ անջատված երկրորդային կուլտուրաները մեծ մասամբ իրենց հատկություններով խիստ տարբերվում են «սկզբնական» շտամներից:

Տարբեր եղանակներով ռեգեներացման ժամանակ արդյունքների զուգահիշման տոկոսը չափազանց ցածր է: Այդ ցույց է տալիս, որ հիշյալ բակտերիաների ֆիլտրվող ձևերի նշված եղանակներով ռեգեներացիան կրում է պատահական բնույթ:

Ստացված արդյունքները չեն համաձայնեցվում ֆիլտրվող ձևերի նկատմամբ գոյություն ունեցող այն տեսակետին, ըստ որի վերջիններս համարվում են բակտերիաների զարգացման օրինաչափ ստադիա: