

Р. А. ТЕР-ПОГОСЯН

ДИАГНОСТИКА КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
ПРИ ПОМОЩИ БАКТЕРИОФАГОВ

Современные представления о взаимоотношении бактерий с гомологичными фагами говорят о неотделимости фагов от бактерий. В настоящее время общепризнанно, что нахождение в том или ином исследуемом материале фагов говорит о наличии в нем соответствующих микробов.

Как известно, фагодиагностика при некоторых инфекционных заболеваниях оправдала себя и заняла определенное место в практике лабораторных исследований.

Однако, если до последнего времени фагодиагностика сводилась или к поискам фага в исследуемом материале, или к наблюдениям за изменениями, наступающими в выделенных чистых культурах микробов под влиянием соответствующего фага (то есть дополнительным методом идентификации), то в настоящее время приобретает большое значение метод диагностики, заключающийся в обнаружении микробов на основании нарастания титра известного фага, прибавляемого к исследуемому материалу.

Метод диагностики, основанный на реакции нарастания титра фага, может быть с успехом применен при таких инфекционных заболеваниях, как дизентерия, брюшной тиф, паратифы, диспепсиколи.

Для обнаружения специфических возбудителей по указанному методу необходимо следующее:

1. исследуемый материал (фекалии),
2. специфические бактериофаги,
3. пробирки с 4,5 см³ стерильного мясопептонного бульона,
4. чашки Петри с твердой питательной средой (мясопептонный агар, среда Эндо),
5. фильтр Зейтца.

Методика исследования. Для постановки реакции прежде всего приготавливаются отдельно рабочие разведения соответствующих бактериофагов. Рабочее разведение определенного фага готовится следующим образом: берутся различные разведения фага (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} ... до 10^{-7} , а иногда и более в зависимости от исходного титра бактериофага) и по капле каждого разведения наносится на мясопептонный агар или среду Эндо, засеянную соответствующей культурой с помощью шпателя Дригальского. Засеянные чашки помещаются в термостат на 18—24 часа, после чего проверяется интенсивность лизиса культуры различными разведениями фага. За рабочее разведение фага принимается то, кото-

рсе предшествует разведению, вызывающему лизис культуры в виде точек.

Приготовленные таким образом рабочие разведения разных фагов можно использовать в течение нескольких месяцев при условии хранения их в темном, прохладном месте.

Основной опыт. Исследуемый материал (фекалии) эмульгируется в равном объеме физиологического раствора и после отстаивания 0,3—0,5 см³ эмульсии переносится в пробирку с 4,5 см³ бульона. Затем в эту же пробирку вносится 10—15 капель рабочего разведения фага. После взбалтывания в течение 10—15 сек. пробирка помещается в термостат при 37°C на 12—24 час. (в случае необходимости быстрого ответа — на 5—6 час.). Затем содержимое пробирки фильтруется через фильтр Зейтца и одна капля фильтрата петлей или пастеровской пипеткой наносится на поверхность твердой питательной среды, засеянной соответствующей культурой (на одной и той же чашке можно испытать действие 16 различных фильтратов).

Засеянная чашка помещается в термостат и уже через 5—6 час. инкубации можно читать результаты опыта. Если в исследуемом кале имелись соответствующие примененному фагу микробы, то на месте нанесенной капли в результате нарастания титра фага наблюдается сплошной лизис культуры. При отсутствии в исследуемом материале соответствующих микробов нарастания титра фага не наблюдается и поэтому на месте нанесения капли фильтрата отмечается лизис культуры в виде точек.

Параллельно с основным опытом ставится контроль: в пробирку с 4,5 см³ бульона, добавляется столько же капель рабочего разведения фага, сколько было добавлено в опытную пробирку, после чего контрольная пробирка ставится в термостат на тот же срок, что и опытная. Затем одна капля содержимого контрольной пробирки наносится на другой сектор той же чашки, куда была нанесена капля фильтрата из опытной пробирки. После выдержки в термостате читается результат: на месте нанесенной капли отмечается лизис в виде точек.

Постановка контроля позволяет: 1) наглядно видеть нарастание титра фага в случаях наличия соответствующих микробов в исследуемом материале и 2) постоянно контролировать способность рабочего разведения фага, вызывать лизис культуры в виде точек.

Предлагаемая методика проста, легко выполняема и потому может быть применена в практических лабораториях, как быстрый вспомогательный метод диагностики.

Ո. Ա. ՏԵՐ-ՊԱՂԱՍՅԱՆ

ԱՂԻՔԱՅԻՆ ԻՆՖԵԿՑԻՈՆ ՇԻՆՏԻԶԱՆԵՐԻ ԱԵՏՈՐՈՇՈՒՄԸ
ԲԱԿՏԵՐԻՈՅԱԳԵՐԻ ՕԳՆՈՒԹՅԱՄԲ

Ա. մ. փ. ո. փ. ո. 1 մ

Բակտերիոֆագի օգնությունը հիվանդության բնույթը ախտորոշելու համար նախ և առաջ անհրաժեշտ է պարտադիր ֆագի աշխատանքային նոսրացումը: Դրա համար պետք է վերցնել առօրյալում կիրառվող բակտերիոֆագը և նոսրացնել 10, 100, 1000, 10000, ... մինչև 10 մլն սնգամ: Դրանից հետո Պետրիի թասում մաս-պեպտոնային ագարի կամ էնդո միջավայրի մալերենին Դրեգուսկու շաքարելով ցանվում է տվյալ ֆագին համապատասխան կուլտուրան և տարբեր սեկտորներում օդակով կամ բացօթյան պլակակայանով կաթեցվում մեկ կաթիլ լուրաքանչյուր նոսրացումից (պատերյան պիպետկան ամեն մի նոսրացման համար պետք է վերցնել նորը, իսկ օդակը ամեն անգամ ուղրել): Պետրիի թասը տերմոստատում պահվում է 18—24 ժամ, որից հետո ստուգվում է արդյունքը: Աշխատանքային ընդունվում է այն նոսրացումը, որը նախորդվում է կետային լիզիս տվող նոսրացմանը:

Տարբեր բակտերիոֆագերի աշխատանքային նոսրացումները, վերոհիշյալ ձևով պարտադիր ձևով, կարելի է օգտագործել մի քանի ամիս, պայմանով, որ նրանք պահվեն սառը և մութ տեղում:

Հիվանդության ախտորոշման համար հետազոտվող ֆեկալ զանգվածին համապատասխան ազելացնում են ֆիդիոլոգիային լուծույթ, խառնում և պինդ մասերը նստելուց հետո 0,3—0,5 սմ³ տեղափոխվում այլ փորձանոթի մեջ, որտեղ նախօրոք լցված է 4,5 սմ³ ստերիլ մաս-պեպտոնային բուլոն:

Հիմնական փորձին զուգընթաց անհրաժեշտ է դնել նաև կոնտրոլ: Կոնտրոլի նպատակով վերցվում է փորձանոթ՝ 4,5 սմ³ մաս-պեպտոնային բուլոնով և ազելացվում բակտերիոֆագի աշխատանքային նոսրացումից ալնքան կաթիլ, ինչքան ազելացվել էր հետազոտվող նյութին: Փորձի եզրափակիչ ստադիայում հետազոտվող նյութի ֆիլտրատի հետ մեկտեղ կոնտրոլից մեկ կաթիլ տեղափոխվում է Պետրիի թասի մի այլ սեկտորի վրա: Կոնտրոլը միշտ պետք է տա համապատասխան կուլտուրայի լիզիս առանձին կետերի ձևով: Կոնտրոլը հնարավորություն է տալիս՝ ա) ցայտուն կերպով նշել հետազոտվող նյութի մեջ օգտագործված ֆագին համապատասխան միկրոօրգանի առկայության դեպքում բակտերիոֆագի ախտի բարձրացումը և բ) մշտապես ստուգել փորձում վերցված ֆագի աշխատանքային նոսրացման ակտիվությունը:

Ախտորոշման վերոհիշյալ լաբորատոր մեթոդը կարելի է կիրառել այնպիսի աղիքային ինֆեկցիոն հիվանդությունների ժամանակ, ինչպիսիք են՝ որովայնային տիֆը, պարատիֆերը, դիզենտերիան, դիսպեպսիկոլինները: Տվյալ մեթոդը կարելի է օգտագործել նաև վետերինար պրակտիկայում:

Հայտնի բակտերիոֆագերի օգնությամբ հիվանդության ախտորոշման վերոհիշյալ մեթոդիկան իրենից ներկայացնում է առօրյալում հեշտ կիրառելի և արագ ախտորոշման մեթոդ, որի հետևանքով այն լաբորեն պետք է կիրառվի լաբորատոր հետազոտությունների ժամանակ՝ իբրև ախտորոշման օժանդակ միջոց: