

Б. П. КАРАБЕКОВ

К ВОПРОСУ ОБ ОБРАЗОВАНИИ ФИЛЬТРУЮЩИХСЯ ФОРМ ТИФОЗНЫХ И ДИЗЕНТЕРИЙНЫХ БАКТЕРИЙ

Целью настоящей работы было выяснение возможности образования фильтрующихся форм тифозных и дизентерийных бактерий при различных условиях их культивирования. Объектом изучения служили мутейные штаммы брюшнотифозных и дизентерийных Флексенер бактерий — «2-t. abd» и «6-Флексенер» — типичных по своим морфологическим, культуральным, биохимическим и серологическим свойствам, а также местный штамм брюшнотифозных бактерий «18-t. abd», также с типичными свойствами.

Исходные, опытные штаммы культивировались в следующих условиях: 1) выращивание в термостате при 37° в течение 18—24 ч. на жидких и плотных питательных средах; 2) длительное выращивание в термостате при 37° в течение 7, 14, 21, 28, 35, 42 и до 65 дней на жидких и плотных питательных средах; 3) длительное выращивание в комнатных условиях (17—22°) в течение 7, 14, 21, 28, 35, 42 и до 35 дней на жидких и плотных питательных средах. В качестве питательных сред пользовались обычным мясопептонным агаром, 20% желчным бульоном и простым мясопептонным бульоном — РН 7,2—7,6.

Фильтрация культур производилась через асбестовые фильтры марки «СФ» при отрицательном давлении 650 мм ртутного столба не более одного часа. Всего было получено 98 фильтратов, которые изучались следующими методами регенерации: 1) методом посева фильтратов в свежие неоплодотворенные куриные яйца. В качестве контроля служили яйца, в которые вводился 0,5—1,0 мл стерильного бульона, а также яйца, не подвергшиеся никаким манипуляциям. Все контрольные опыты дали отрицательный результат; 2) методом «кормилки» на жидких средах. Контролем служили среды с «кормилкой» без добавления фильтрата. В качестве кормилки пользовались штаммом желтой сарцины, выделенной из воздуха лаборатории; 3) длительным выращиванием в течение трех месяцев в следующих средах: а) мясопептонный бульон, б) желточный бульон, в) желчный и мясопептонный бульоны, обогащенные желтком куриных яиц из расчета 4 желтка на 500 мл бульона; 4) длительным инкубированием фильтратов в течение 3-х месяцев в термостате при 37°; 5) посевом длительно инкубированных фильтратов в куриные яйца.

О наличии фильтрующихся форм в исследуемых фильтратах судили по выявлению вторичного роста, появление которого контролировалось

периодическими серийными посевами из сред, служащих для регенерации.

Результаты исследования приведены в табл. 1.

Таблица 1
Регенерация фильтрующихся форм тифозных и дизентерийных бактерий из фильтратов культур, выращенных в различных условиях

Условия культивирования	Количество исследованных фильтратов	Количество регенерированных вторичных культур
Выращивание в течение 18—24 ч. при 37°	22	13
Длительное выращивание без посева при 37°	38	27
Длительное выращивание без посева при комнатной температуре	38	28
Всего	98	68

Данные, приведенные в табл. 1, показывают достаточно большое количество регенерированных форм, выделенных из фильтратов культур тифозных и дизентерийных бактерий, при всех упомянутых условиях их культивирования.

Интерес представляет то обстоятельство, что значительное количество вторичных культур регенерировано из фильтратов свежих культур, что говорит о наличии условий для образования фильтрующихся форм также в молодых, свежих культурах.

Желая уточнить влияние сроков выращивания культур без посева на процесс образования фильтрующихся форм, мы, как указывалось выше, исследовали фильтраты старых бульонных и агаровых культур 7, 14, 21, 28, 35, 42, 65-дневной давности, выращенных как в комнатных условиях, так и в термостате.

Данные этих опытов приведены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, вторичные культуры в более или менее одинаковом количестве регенерированы как из фильтратов свежих культур, так и из фильтратов старых культур различного срока хранения. Установить какую-либо закономерность в отношении образования фильтрующихся форм под влиянием длительности культивирования бактерий в результате проделанных опытов не удалось. Однако при сравнении результатов исследования отдельных условий культивирования можно заметить, что из фильтратов культур, культивированных в жидких средах, выделено регенерированных культур почти в 2 раза больше, чем из фильтратов агаровых культур. Это обстоятельство указывает на то, что в жидких средах условия для образования фильтрующихся форм значительно более благоприятны, чем такие же условия при культиви-

Таблица 2

Возраст культур	Условия выращивания				Всего
	на жидких средах	на плотных средах	выращивание в термостате (37°)	выращивание в комнатных условиях (17—22°)	
18—24 ч.	10	3	13	—	13
	11	11	22	—	22
7 дней	3	8	4	7	11
	6	6	6	6	12
14 дней	6	5	7	4	11
	6	6	6	6	12
21 день	4	0	2	2	4
	6	6	6	6	12
28 дней	7	4	6	5	11
	6	6	6	6	12
35 дней	3	0	1	2	3
	6	6	6	6	12
42—65 дней	11	4	7	8	15
	8	8	8	8	16
Всего . . .	44	24	40	28	68
	49	49	60	38	98

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

ровании на плотных средах. Это можно объяснить более интенсивными генеративными процессами в жидких средах, в связи с чем и более интенсивными процессами разрушения и лизиса бактериальных клеток.

Результаты же исследования фильтратов культур, выдержанных при различных температурных условиях, показывают, что вторичные культуры почти в одном и том же количестве выделялись как из фильтратов культур, выращенных в термостате (37°), так и культур, выращенных в комнатных условиях. Так, из 38 фильтратов культур, выращенных при 37°, регенерировано 27 вторичных культур, что составляет 71,05% к числу исследованных фильтратов. А из 38 фильтратов культур, выращенных при 17—22°, регенерировано 28 вторичных культур, что составляет 73,6% к числу исследованных фильтратов.

Эти данные говорят, что как при оптимальных температурных условиях, так и при сравнительно низких температурных условиях культивирования имеются почти одинаковые условия для образования бактериями фильтрующихся форм.

* Здесь не учитывались результаты исследования фильтратов культур, выращенных при 37° в течение 18—24 ч.

Многочисленные литературные данные свидетельствуют, что регенерированные из фильтрующихся форм вторичные культуры в значительной степени отличаются по своим свойствам от исходных штаммов.

Эти данные полностью подтвердились результатами наших исследований.

Выше было указано, что из 98 исследованных фильтратов брюшно-тифозных и дизентерийных культур регенерировано 68 вторичных культур, из которых всего лишь 19 культур по своим свойствам были похожи на исходные штаммы, остальные же 49 резко отличались от исходных штаммов.

По морфологическому признаку выделенные вторичные культуры в основном были разделены на 2 группы. В первую группу отнесены культуры, представляющие собой граммотрицательные палочковидные клетки, образующие на среде Эндо прозрачные, бесцветные с ровными краями круглые колонии. Во вторую группу отнесены граммотрицательные мелкие кокко-бактерии, овальные, полиморфные бактерии, также образующие бесцветные, прозрачные колонии.

Исследования показали, что никакой закономерной связи между морфологическими признаками и биохимическими и серологическими свойствами вторичных культур не имеется. Эти морфологические группы были неоднородны по биохимическим и серологическим свойствам; как в I, так и во II группе имелись и активные и инертные в биохимическом и серологическом отношении вторичные культуры.

Особенно большой вариабильностью отличались биохимические свойства вторичных культур. По этому признаку культуры были разделены на 4 группы.

В I группу отнесены 19 регенерированных культур, похожих по биохимическим свойствам на исходные штаммы. Среди представителей этой группы часть культур по отдельным признакам не соответствовала исходному штамму. Чаще всего это относилось к способности культур образовывать сероводород или индол, иногда слабую ферментацию углеводов. Представители этой биохимической группы вторичных культур агглютинировались сыворотками, полученными против исходных штаммов. Однако наряду с этим они обладали значительной поливалентностью антигенов, что выражалось положительной реакцией агглютинации сыворотками против других видов бактерий (табл. 3).

Во II группу включены 27 регенерированных культур, которые ферментируют углеводы короткого пестрого ряда до образования кислоты и газа. В серологическом отношении среди них имелись как культуры, агглютинирующиеся сывороткой против исходного штамма, так и культуры, не агглютинирующиеся исходной сывороткой.

В этой группе регенерированных культур отмечалась значительная активность по отношению к сывороткам против других видов бактерий (табл. 3).

В III группу вошли 16 биохимически инертных штаммов. Культуры

Таблица 5

Исходные культуры	Группа	Обозначение культуры	Его исходный штам	Морфологические и типично-риальные свойства			Биохимические свойства						Агглютинация сыворотками и титрах					"разновидные" свойства		
				форма клеток	подвижность	окраска по Граму	лактоза	галактоза	маннит	сахароза	ингиб.	гемигемолит.	сыворотки					брюногифолия фаг	антенрипный фаг	
													18-г. abd. титр 1:1280	2-г. abd. титр 1:6400	флекснер титр 1:12800	парафила "А" титр 1:3200	парафила "В" титр 1:3200			
Исходные культуры	I группа	TK-IV TERM-VI	18-г. abd.	палочка	-	-	-	к	к	-	-	-	1:1600	1:800	1:400	1:1600	1:400	-	-	
			18-г. abd.	палочка	-	-	-	к	к	-	-	-	1:160	1:1600	1:200	1:800	1:400	-	-	
	II группа	TK-VIII KOM-II 6 Ф. TERM-I 6 Ф. K. K.-I	18-г. abd.	коккобактерии	+	-	-	-	кг	кг	кг	-	-	-	-	-	1:400	1:400	-	-
			18-г. abd. 6-Флекснер	палочка	-	-	-	кг	кг	кг	кг	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	III группа	2-г. КБ KOM-IX 2-г. TERM-III	2-г. abd.	коккобактерии	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			18-г. abd. 2-г. abd.	палочка	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1:1600	1:1600	1:1600	1:1600	1:800	-	-
	IV группа	37 2-г. KOM-IV	18-г. abd.	палочка	-	-	-	к	к	-	к	-	-	1:800	1:1600	1:1800	1:1600	1:1600	-	-
			2-г. abd.	палочка	-	-	-	-	к	ц	к	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			18-г. abd.	палочка	-	-	-	-	к	к	-	-	-	1:6400	1:6400	-	-	-	-	-
			2-г. abd.	палочка	-	-	-	-	к	к	-	-	-	1:400	1:6400	-	-	-	-	-
			9-Флекснер	-	-	-	-	к	к	-	+	-	-	-	1:12800	-	-	-	-	-

- к — кислотообразование,
 кг — кислотообразование с газом,
 + — положительная реакция,
 - — отрицательная реакция.

этой группы в серологическом отношении или инертны, или агглютинируются в более или менее значительных титрах сывороткой исходного штамма. II и этой группе отмечалась значительная активность к сывороткам против других видов бактерий (табл. 3).

В IV группу отнесено 6 вторичных культур, характеризующихся тем, что они разлагают некоторые углеводы короткого ряда до кислотообразования, ферментация которых нехарактерна для их исходных штаммов. Среди этой группы культур также отмечены как серологически инертные, так и активные по отношению к исходной сыворотке представители (табл. 3).

В табл. 3 приведены морфологические, биохимические, серологические и фаголизабильные свойства некоторых характерных представителей из каждой группы регенерированных культур. Для наглядности там же приведены соответствующие свойства их исходных штаммов.

Как видим, исследование морфологических, биохимических и серологических свойств вторичных культур показало в значительном проценте резкую разницу в их свойствах по отношению к исходным штаммам. В связи с этим можно предполагать, что в процессе образования фильтрующихся форм и их последующей регенерацией оказываются расшатанными все свойства данного вида бактерий, в том числе значительным изменениям подвергается вся ферментная система и антигенная структура бактерий. Такие изменения могут быть обусловлены изменением всего процесса обмена веществ, могущего наступить в процессе образования фильтрующихся форм и продолжающегося оставаться измененным в течение всего процесса регенерации до образования видимых клеточных форм. Ведь трудно предположить, что обмен веществ у видимых и авикулярных форм бактерий одинаков. Безусловно, изменения определенные должны наступать, и по всей вероятности, наступают. Экспериментальные изыскания в этой области на более фактическом материале могут подтвердить вышеприведенное предположение.

Работами многих исследователей показано, что при длительных пассированиях регенерированных вторичных культур через различные питательные среды (5% желчный бульон, обогащенные питательными веществами среды и др.) можно добиться восстановления исходных свойств вторичными культурами. Однако почти все авторы указывают на трудность этого процесса, а во многих случаях, в результате весьма длительных опытов, все-таки не удается получить полную реверсию в исходную форму.

Аналогичные данные получены также и нами. В процессе многократных пересевов нам не удалось добиться реверсии свойств у вторичных культур II, III и IV биохимических групп. Лишь одна культура («37») при многократном пассировании через 5% желчный бульон восстановила свои исходные свойства и стала биохимически типичной.

Таким образом, вторичные культуры способны в течение довольно длительного периода сохранять свои вновь приобретенные свойства.

Эти данные, а также вышеприведенные противоречат взгляду на

фильтрующиеся формы, как на закономерный процесс развития бактерий.

Изменения подобного характера могут наступать лишь под влиянием различных вредных воздействий, подчас трудно определяемых со стороны внешней среды на микроорганизмы, что и понятно с точки зрения учения об изменчивости микроорганизмов.

В ы в о д ы

1. Условия для образования фильтрующихся форм тифозных и дизентерийных бактерий имеются как в их молодых, свежих культурах, так и в старых. Не удалось установить какую-либо закономерность и отношения влияния сроков старения на процесс образования фильтрующихся форм указанных бактерий.

2. Культивирование в жидких средах значительно больше способствует образованию фильтрующихся форм тифозных и дизентерийных бактерий, чем культивирование на плотных средах. В фильтрах культур, выращенных при 37°, обнаруживается столько же фильтрующихся форм, что и в фильтрах культур, выращенных при температуре 17—23° (комнатные условия).

3. Вторичные культуры, регенерируемые из фильтрующихся форм тифозных и дизентерийных бактерий, в значительном количестве резко отличаются по своим свойствам от исходных штаммов. Реверсия их в исходную форму наблюдается, по нашим данным, редко и требует длительных направленных исследований.

4. Результаты настоящего исследования не согласуются с представлением о фильтрующихся формах, как о закономерной стадии развития бактерий.

Лаборатория микробиологии
Института эпидемиологии и гигиены
Минздрава АрмССР

Поступило 15.IV 1959 г.

Բ. Պ. ԿԱՐԱՆՅԱՆ

ՈՐԹՈՒՅՆՈՒՅԻՆ ՏԻՅԻ ԵՎ ԿԻՉԵՆՏԵՐԻՅԱՆԻ ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ՀԻՎՏՐՎՈՂ ՉԵՂՆԵՐԻ ԱՌԱՋԱՅՈՒՆԻ ԴՐԱՄԻՆ

Ա Վ Փ Ա Փ Ա Վ

Տվյալ աշխատության նպատակն է եղել ուսումնասիրել որովայնային «ԻՉԻ» և դիզենտերիայի բակտերիաների ֆիլտրվող ձևերի առաջացումը տարբեր պայմաններում նրանց աճեցնելու զեպրում:

Ուսումնասիրվել են որովայնային «ԻՉԻ» և դիզենտերիայի թանգարանային «2-1. abd», «6-Վլերաներ» և տեղական «18-Ն. abd» շտամները, որոնք իրենց բոլոր «ատկուբուսներով» եղել են «ԻՉԻ» բակտերիաների աչգ տեսակների հաճար:

Վերոհիշյալ շտամները աճեցվել են Հետեյալ պայմաններում.

1. Քերմոսաառում 37°C-ի տակ 18—24 ժամվա ընկացրում Հեղուկ և պինդ սննդամիջավայրերում:

2. Երկարաան, 7-ից մինչև 65 սր տեղադրվածք, Հեղուկ և պինդ սննդամիջավայրերում, 37°C-ի տակ:

3. Երկարաան, 7-ից մինչև 65 սր տեղադրվածք, Հեղուկ և պինդ սննդամիջավայրերում, սենյակային ջերմաստիճանում (17—22°):

Նշված պայմաններում աճեցված կուլտուրաները ֆիլտրվել են տարևառե ֆիլտրերով, Ուսումնասիրվել են ընդամենը 98 ֆիլտրատներ, որոնք սեղեներացվել են Հետեյալ եղանակներով՝

- 1. Ֆիլտրատները հալի թարմ ձվի գեղնուցի մէջ աճեցնելու եղանակով:
- 2. Հեղուկ սննդամիջավայրերում սկրմիլիպաչի (սանեզուցիչ) եղանակով:
- 3. Երկարաան, մինչև 3 ամիս տեղադրվածք, աճեցրում հարսառցված սննդամիջավայրերում:

Ֆիլտրվող ձևերից սեղեներացվել են 68 երկարացյալին կուլտուրաներ:

Ուսումնասիրության արդյունքները ցույց են ապրիտ, որ ֆիլտրվող ձևեր առաջանում են աճեցման բոլոր վերոհիշյալ պայմաններում: Հետաքրքրության արժանի է այն հանգամանքը, որ բավականին մեծ քանակով երկրորդային կուլտուրաներ են սնջատվել վերոհիշյալ բակտերիաների թարմ, 18—24-ժամա կուլտուրաների ֆիլտրատներից: Այդ փաստը ցույց է ապրիտ, որ ֆիլտրվող ձևերի առաջացման համար պայմաններ զոչույցուն ունեն հաս թարմ կուլտուրաներում:

Կատարված փորձերի արդյունքները թույլ չեն տվել որևէ օրինաչափություն հայտնաբերել ֆիլտրվող ձևերի առաջացման պրոցեսում աճեցման երկարատևության ազդեցության նկատմամբ: Ֆիլտրվող ձևեր առաջանում են ինչպես թարմ կուլտուրաներում, այնպես էլ հին կուլտուրաներում:

Սակայն, ինչպես պարզվել է հետազոտությունների արդյունքներից, Հեղուկ սննդամիջավայրերում աճեցված կուլտուրաների ֆիլտրատներից սնջատվում են մոտավորապես 2 անգամ ավելի երկրորդային կուլտուրաներ, քան պինդ սննդամիջավայրերում աճեցված կուլտուրաների ֆիլտրատներից, այդ կարելի է բացատրել բակտերիաների բազմացման և բույրացման ավելի բուսն պրոցեսներով, որոնք տեղի են ունենում Հեղուկ սննդամիջավայրերում: Ինչ վերաբերում է ջերմաստիճանի ազդեցությանը, պետք է նշել, որ նույն օսնակային կուլտուրաներ կուլտուրաներ են սեղեներացվել ինչպես 37°, այնպես էլ 17—23°-ում աճեցված կուլտուրաների ֆիլտրատներից:

Որոմայնային տիֆի և զիլենտերիայի բակտերիաների ֆիլտրվող ձևերից սեղեներացված երկրորդային կուլտուրաները իրենց հատկություններով մեծ մասամբ խիստ տարբերվում են իրենց եղակետային շտամներից: Հատկությունների վերականգնումը նրանց մոտ, մեր ամչաչներով, նկատվում է հագվողից և պահանջում է երկարատև ժամանակ:

Այնպատաների արդյունքները չեն համապատասխանում գոչույցուն ունեցող այն տեսակետին, ըստ որի ֆիլտրվող ձևերի առաջացումը համարվում է բակտերիաների զարգացման օրինաչափ ստացիա: