

146, 837.

Къ вопросу
о
вліяніи маллеина на вегетативныя и виру-
лентныя свойства сапныхъ бациллъ.

Изъ бактериологической лабораторіи Юрьевского Ветеринарнаго Института,
завѣдываемой Экс. Ордин. Проф. К. К. Гаппихомъ.

ДИССЕРТАЦІЯ
НА СТЕПЕНЬ
Магистра Ветеринарныхъ Наукъ

И. Осколкова,
Ветеринарнаго врача 1-го Лейбъ-драгунскаго Московскаго
Императора Александра III полка.

Официальные оппоненты:
Прив.-Доцентъ Маг. **С. Е. Пучковскій**, Профессоры: Маг. **Н. Н. Раупахъ** и
Маг. **Н. Н. Гаппихъ**.

Юрьевъ.
Печатано въ типографіи К. Маттисена.
1899.

Печатать разрѣшается.

г. Юрьевъ, 17-го мая 1899 г.

№ 639.

Директоръ

Юрьевского Ветеринарнаго Института

К. Раупахъ.

Памяти

моихъ дорогихъ родителей

и другу К. И. Б.

D.159 429

Почитаю своимъ нравственнымъ долгомъ принести чувства признательности и благодарности всѣмъ моимъ Начальникамъ, давшимъ своими представленіями и ходатайствами мнѣ возможность быть прикомандированнымъ къ Юрьевскому Ветеринарному Институту, для усовершенствованія въ изученіи сапа и другихъ повальныхъ болѣзней.

Искренне приношу сердечную благодарность Многоуважаемому Профессору Юрьевскаго Ветеринарнаго Института Карлу Карловичу Гаппиху за его сердечное отношеніе и просвященное руководство во все время при выполненіи мною этой работы, а также благодарю Профессора за данныя имъ мнѣ свѣдѣнія по бактериологіи.

Многоуважаемаго Профессора и Директора Института К. К. Раупаха благодарю за разрѣшеніе заниматься специальнымъ изслѣдованіемъ на бактериологической станціи Института.

Также приношу благодарность Профессору В. Г. Гутману за преподаанный имъ практическій курсъ изслѣдованія здоровыхъ и больныхъ глазъ у дом. животныхъ.

Каждому современному образованному человеку, даже неспециалисту известно, какую громадную услугу оказало человечеству разностороннее изучение биологических особенностей, так называемых, болезнетворных — патогенных — микроорганизмов. Особенно ценные результаты как в чисто-научном смысле, так и в практическом, получились от изучения влияния на эти организмы вообще условий, при которых эти страшные враги человечества могут жить, размножаться и оказывать то или иное пагубное воздействие на организмы людей и животных.

Первое место среди этих условий занимает почва, *гесп.* питательная среда, на которой болезнетворные микробы произрастают. Великим множеством фактов доказано, что достаточно самых наималейших тех или иных изменений в химическом составе питательной среды, на которой выращивается известный патогенный микроб, чтобы изменить его способность к проростанию и к выработке им тех ядовитых веществ, которые играют существеннейшую роль в патогенезе заразных, инфекционных болезней.

Эти свойства возбуждающих заразные болезни микроорганизмов, т. е. способность к проростанию — вегетативная способность — и способность к выработке ядовитых, патогенных веществ — вирулентная способность, под влиянием химического состава среды, могут или усиливаться,

или ослабѣть и даже совершенно уничтожиться. Въ подтвержденіе только что высказаннаго укажемъ на нѣкоторые болѣе характерные примѣры изъ литературы, относящіеся къ вопросу о значеніи почвы, resp. питательной среды вообще для жизни микрофитовъ.

Проф. Gedoelst¹⁾, изъ работы M. Raulin'a „Etudes chimiques sur la végétation. Recherches sur le développement d'une mucédinée dans un milieu artificiel;“ Ann. des Sc. nat. 1870., приводитъ слѣдующія, весьма поучительныя указанія: „M. Raulin'у послѣ кропотливыхъ изслѣдованій удалось подыскать среду для плѣсневого грибка — *Aspergillus niger*. Эта среда имѣетъ слѣдующій составъ: воды 1500 grm., кристаллическаго сахара 70, виннокаменной кислоты 4, азотнокислаго амміака 4., фосфорнокислаго амміака 0,6, углекислаго калия 0,6, углекислой магнезій 0,4, сѣрнокислаго аммонія 0,25, сѣрнокислаго цинка 0,07, сѣрнокислаго желѣза 0,07, сѣрнокислаго калия 0,07. Такимъ образомъ составленная жидкость дастъ наиболѣе обильный сборъ названной плѣсени. Къ концу шести дней роста въ чашкѣ, имѣющей площадь около 40 кв. сант., собранная культура въ высушенномъ состояніи вѣсила 25 grm. Слегка измѣняя составъ своей жидкости, M. Raulin получилъ крайне интересные результаты, указывающіе на вліяніе различныхъ составныхъ частей, даже при минимальныхъ ихъ количествахъ. Такъ, при отнятіи отъ этой среды 0,6 grm. углекислаго калия сборъ уменьшился до $\frac{1}{25}$ части первоначальнаго. Если, оставляя всѣ прочія составныя части, лишить жидкость фосфорнокислаго амміака, то вѣсъ сбора уменьшится до $\frac{1}{200}$ ч. Устраненіе сѣрнокислаго цинка, который входитъ въ составъ жидкости въ количествѣ лишь 7 центигр., содержащихъ 0,032 чистаго цинка, уменьшаетъ сборъ до 2,5 grm. вмѣсто 25 grm.“ „Съ другой стороны, прибавленіе извѣстныхъ веществъ даже въ крайне минимальныхъ дозахъ можетъ совершенно остановить всякое развитіе этой плѣсени. Такъ, напримѣръ, Raulin опредѣлилъ, что прибавленіемъ

$\frac{1}{1600000}$ азотнокислаго серебра можно пріостановить произростаніе, и даже если только влить культурную жидкость въ серебрянную чашку, то этого уже достаточно, чтобы не получить никакого произростанія; а между тѣмъ самый тщательный химическій анализъ не въ состояніи обнаружить въ жидкости даже слѣдовъ серебра и самое точное взвѣшиваніе чашки до и послѣ опыта не показываетъ никакой разницы. Эти факты достаточно характеризуютъ чувствительность микроорганизмовъ къ извѣстнымъ веществамъ, а слѣдовательно и вліяніе на нихъ различнаго состава среды.“

По словамъ проф. Kitt'a²⁾, нельзя получить культуры палочекъ сибирской язвы ни въ цѣльной, ни въ разведенной мочѣ рогатаго скота, овецъ и лошадей, при щелочной или средней реакціи, между тѣмъ какъ въ человеческой мочѣ эта культура легко вырастаетъ.

Proskauer и Beck³⁾ выращивали туберкулезныхъ бациллъ на средахъ опредѣленнаго химическаго состава и между прочимъ на питательной жидкости Kühne*), прибавляя еще къ ней 1,2 к. см. жидкости, составленной изъ минеральныхъ веществъ, сообразно составу продажнаго Либиховскаго экстракта (или его золы). Исключая изъ такой питательной среды то или другое вещество, авторы нашли, что наиболѣе пригодными для питанія туберкулезныхъ бациллъ являются лейцинъ и аспарагинъ, а тауринъ задерживаетъ ростъ культуръ; прибавленіе же къ средѣ 0,2 декстрозы значительно усиливаетъ ростъ бациллъ.

A. Marmorek⁴⁾ нашелъ, что культура стрептококка на смѣси человеческой кровяной сыворотки съ обыкновеннымъ питательнымъ бульономъ — въ отношеніи 2:1 — долгое время сохраняется вполне дѣятельною, тогда какъ культура того же микроба въ обыкновенномъ бульонѣ очень быстро теряетъ свою смертоносную силу.

*) Жидкость Kühne: воды 100,0, лейцина 0,4, тирозина 0,1, аспаргина 0,2, слизево-кислаго аммонія 0,2, таурина 0,05, хлористаго натра 0,5 и глицерина 4,0.

Изъ этого совершенно ясно видно, какъ важно для науки и для практическихъ цѣлей изучать вліяніе состава питательной среды на вегетативныя и вирулентныя свойства микробовъ.

Микробы, какъ и всякія другія живыя организованныя существа, поселившись въ той или другой благопріятной для нихъ питательной средѣ и при прочихъ благопріятныхъ для ихъ жизни условіяхъ, живутъ, растутъ и размножаются. Это означаетъ, что они, съ одной стороны, отнимаютъ отъ среды все, что имъ необходимо для ихъ жизни, т. е. ассимилируютъ имѣющіяся въ средѣ нужныя для нихъ питательныя вещества, съ другой — они въ эту среду отдаютъ, выдѣляютъ всѣ продукты своей жизнедѣтельности, или, какъ говорятъ, продукты дезассимиляции. Такимъ образомъ первоначальный химическій составъ питательной среды весьма существенно видоизмѣняется. Видоизмѣненная въ своемъ составѣ среда неминуемо должна повліять на жизненныя свойства самого микроба, обитающаго въ ней. Дѣйствительно, наступаетъ моментъ, когда данный микробъ совершенно пріостанавливается въ дальнѣйшемъ своемъ развитіи; притомъ, если онъ не будетъ своевременно перенесенъ въ свѣжую питательную среду, то онъ въ концѣ концовъ совершенно погибаетъ. „Pasteur⁵⁾ нашелъ, что бульонъ, въ которомъ онъ культивировалъ бациллу куриной холеры, дѣлался мало по малу непригоднымъ для новой культуры въ зависимости отъ продолжительности первой вегетации. Когда произрастаніе прекратилось, то бульонъ оказался непригоднымъ служить для питанія новаго поколѣнія того же самаго микроба. . . .“

Chauveau⁶⁾ объясняетъ подобные факты тѣмъ, что микробы дѣлаютъ среды непригодными для дальнѣйшей культуры ихъ вслѣдствіе накопленія вредныхъ веществъ, представляющихъ продукты дезассимиляции.

Эти, такъ сказать, конечныя факты въ біологіи микро-

бовъ установлены точно. Но вообще всѣ другія явленія въ жизни микроорганизмовъ, находящіяся въ связи съ вліяніемъ на нихъ ихъ же продуктовъ жизнедѣтельности, обслѣдованы весьма и весьма еще мало. Между тѣмъ болѣе обстоятельное ознакомленіе съ этими явленіями становится крайне необходимымъ и вызывается чисто практическими соображеніями.

Въ послѣднее десятилѣтіе среди различныхъ способовъ борьбы съ инфекціонными болѣзнями, вызываемыми различными микробами, начинаетъ занимать довольно выдающееся мѣсто способъ, такъ называемой „химической вакцинаціи“. При этомъ способѣ, чтобъ застраховать животное отъ извѣстной заразной болѣзни, вводятъ въ еще здоровый организмъ извѣстнымъ образомъ полученные продукты жизнедѣтельности или того же микроорганизма, которымъ вызывается данная болѣзнь, или даже иного.

Кромѣ того, этимъ способомъ пользуются и для леченія уже начавшей развиваться въ тѣлѣ животнаго или человѣка извѣстной инфекціонной болѣзни. Наконецъ, продукты жизнедѣтельности микробовъ употребляютъ для діагностическихъ цѣлей.

Приведенныхъ фактовъ вполне достаточно для того, чтобы видѣть, какъ важно всестороннее изученіе вліянія продуктовъ жизнедѣтельности микробовъ на нихъ же самихъ.

Въ предлагаемой работѣ мы и попытались приподнять еще хотя бы самый маленькій краешекъ той завѣсы, за которой скрывается жизнь болѣзнетворныхъ микроорганизмовъ, находящаяся въ зависимости отъ нихъ же самихъ. По своей спеціальности военного ветеринарнаго врача мы, съ одобренія проф. К. К. Гаппиха, въ завѣдываемой имъ бактериологической станціи Юрьевскаго Ветеринарнаго Института, рѣшили, по мѣрѣ нашихъ силъ и средствъ, сколько-нибудь выяснить „вліяніе маллеина на вегетативныя и вирулентныя свойства сапнаго бацилла — bacillus

mallei Loeffler'a, этого страшилища конского состава, а особенно всѣхъ людей, которые такъ или иначе вынуждены приходить въ болѣе или менѣе близкое общеніе вообще съ лошадьми, въ частности же съ больными сапомъ. При этомъ, какъ мы увидимъ ниже, на маллеинъ можно смотрѣть по его существу, какъ на комплексъ продуктовъ жизнедѣтельности сапныхъ бациллъ, хотя, благодаря препаровкѣ, видоизмѣненныхъ до нѣкоторой степени.

Въ дальнѣйшемъ изложеніи мы будемъ держаться такого порядка:

- I. Литература вопроса *).
- II. Задачи, методъ и способы нашего изслѣдованія
- III. Наши опыты.

*) Иностранная литература нами могла быть собрана только по русскимъ источникамъ — переводы и рефераты.

I.

Сапные бациллы, развиваясь на питательныхъ средахъ въ культуры, какъ и всѣ прочіе микрофиты, видоизмѣняютъ первоначальный химическій составъ среды и между прочими продуктами обмѣна, свойственными вообще микрофитамъ, даютъ вещества, болѣе или менѣе специфическія только для *bacillus mallei*; вещества эти въ чистомъ видѣ еще не выдѣлены. Различные изслѣдователи сдѣлали попытку утилизировать хотя бы часть ихъ, результатомъ чего и появился „маллеинъ“, къ описанію котораго мы и переходимъ.

М-ръ Х. И. Гельманъ ⁷⁾ 17-го апрѣля 1890 года сообщилъ въ С.-Петербургскомъ обществѣ ветеринарныхъ врачей, что имъ сдѣланы успѣшные опыты діагностированія скрытыхъ формъ сапа при помощи особенно изготовленной имъ жидкости. Въ февралѣ 1891 года авторъ опубликовалъ, что эта жидкость есть не что иное какъ глицериново-водная стерилизованная вытяжка изъ чистыхъ разведений сапа, вырощенныхъ на Кф., и названная имъ „маллеиномъ“.

Въ это же самое время появилось посмертное сообщеніе вет. врача О. Кальнинга ⁸⁾, что въ бактериологической лабораторіи Юрьевскаго Ветеринарнаго Института въ 1890 году имъ приготовлена изъ чистыхъ сапныхъ разведений, снятыхъ съ Кф., жидкость, заслуживающая, по словамъ автора, полного вниманія, какъ діагностическое средство въ сомнительныхъ случаяхъ сапа, подобно кохину s. туберкулину при туберкулозѣ крупнаго рогатаго скота.

Но „отцом“ маллеина должно считать М-тра Гельмана, а отнюдь не Кальнинга*).

Заграницей маллеинъ былъ приготовленъ почти одновременно съ Гельманомъ и независимо отъ него Preusse'омъ⁹⁾ и былъ имъ названъ „сапной лимфой“.

Болѣе или менѣе удачные опыты съ этимъ новымъ діагностическимъ средствомъ для сапа, особенно при скрытыхъ его формахъ, произведенные только что названными авторами, возбудили у специальной публики громадный интересъ. Отовсюду начали появляться сообщенія о тѣхъ или иныхъ результатахъ, полученныхъ отъ примѣненія маллеина для діагностики сапа. Нѣкоторые изслѣдователи**) по тѣмъ или инымъ соображеніямъ не ограничились примѣненіемъ предложенныхъ препаратовъ маллеина, а начали, различно модифицируя способы приготовления его, предлагать свои сорта маллеина; такимъ образомъ въ обращеніи появилось много сортовъ этого средства.

*) Во первыхъ, Гельманъ сдѣлалъ первое свое публичное сообщеніе о маллеинѣ раньше Кальнинга; во вторыхъ, онъ болѣе широко изслѣдовалъ нѣкоторыя свойства открытаго имъ діагностическаго на сапъ средства. Хотя сдѣлать послѣднее Кальнингу помѣшала преждевременная его смерть отъ сапа, какъ роковая дань своему открытію. Х. И. Гельманъ, работая совмѣстно съ Вагнеромъ и Бертушемъ, еще въ 1888 году выдѣлилъ алколоидоподобное кристаллическое вещество изъ вытяжки сапныхъ бациллъ, названное имъ первоначально „Malletoxin“. Первое публичное испытаніе маллеина, какъ реактива на сапъ, было начато 28 января 1891 года.

**) Pearson, Babes, Roux, Schweinitz и Kilborne, Foth, Hofflich, Sohne, Gutzeit, Мальцевъ, Захаровъ и др. Послѣдній авторъ, на ряду съ другими, наглядно доказалъ, на сколько было велико вообще увлеченіе маллеиномъ, и въ частности — какъ каждый изслѣдователь этого средства считалъ только свои препараты отвѣчающими вполне предназначенію для цѣлей быстрого и вѣрнаго діагноза сапа. Это кабинетное увлеченіе изготовленіями различныхъ сортовъ маллеина внесло въ практическую жизнь такую путаницу въ представленіи о дѣйствительной цѣнности маллеина, какъ діагностическаго на сапъ средства, что даже и въ настоящее время нѣтъ никакой возможности сдѣлать какую-нибудь вполне научную оцѣнку этому средству, не смотря на кажущійся громадный статистическій матеріалъ. Интересующихся этимъ матеріаломъ отсылаемъ къ статьѣ М-стра Потапенко: А. В. Н. 1898 г. отд. 3.

Всѣ предложенные различными авторами препараты маллеина имѣютъ два общихъ основныхъ свойства. 1) Всѣ они приготовляются изъ продуктовъ жизнедѣятельности сапныхъ бациллъ. 2) Будучи вприснутыми въ извѣстныхъ количествахъ подъ кожу сапнымъ лошадямъ, они должны вызывать, такъ называемую, „маллеинную реакцію на сапъ“: у инъецированныхъ лошадей появляется болѣе или менѣе высокое лихорадочное повышеніе температуры тѣла, образованіе болѣе или менѣе значительной опухоли на мѣстѣ инокуляціи, хотя не всѣ сорта маллеина вызываютъ появленіе этой мѣстной опухоли; кромѣ того, подъ вліяніемъ маллеина у нѣкоторыхъ сапныхъ лошадей обнаруживаются и различные другіе симптомы общаго недомоганія. Наоборотъ, у здоровыхъ лошадей или у больныхъ другими болѣзнями, но не сапомъ, тѣ же самыя дозы маллеина или даже болѣшія не должны вызывать ровно никакой реакціи, какъ ни мѣстной, такъ ни общей.

Кромѣ только что указанныхъ свойствъ, нѣкоторыми авторами были подмѣчены въ маллеинѣ еще и терапевтическія и вакцинирующія свойства противъ сапа.

Разнятся же между собою сорта маллеиновъ, во первыхъ, тѣмъ, что каждый авторъ для приготовления своего сорта этого вещества пользовался различными сапными культурами какъ по ихъ возрасту, такъ и по питательной средѣ, на которой онѣ выращивались, и по температурѣ, при которой онѣ произрастали. Во вторыхъ, каждый авторъ, по своему соображенію, болѣе или менѣе широко варіировалъ основные принципы техники самого приготовления маллеина.

Понятно само собою, что въ силу только что сказанныхъ обстоятельствъ и химическій составъ у разныхъ сортовъ маллеина не вполне одинаковъ, тождественъ; а отсюда, конечно, и дѣйствіе различныхъ маллеиновъ въ фізіологическомъ, фармакологическомъ, бактериологическомъ смыслѣ не можетъ быть вполне идентичнымъ.