

между изменением морфологического состава крови и температурной кривой, а также с местными явлениями в бубонах.

РОЭ при туляремии повышено с 1-й декады заболевания в 88%, на 3-й декаде уже в 96% случаев заболевания значительно повышается, доходя до 56 мм за час; затем начинает снижаться, но и после 5-й декады только в 20% случаев приходит к норме.

Нужно помнить, что присоединившиеся вторичные инфекции изменяют картину крови.

Выводы: 1. При туляремии отмечаются: а) нормальные или повышенные количества лейкоцитов;

б) повышены относительные и абсолютные количества лимфоцитов.

2. В первые 2 декады заболевания ясно выражены палочкоядерный сдвиг и моноцитоз.

3. В большом проценте случаев эозинофилы из крови не исчезают.

4. РОЭ повышена с 1-й декады заболевания.

Поступила в ред. 27. III. 1938.

Из кафедры микробиологии Винницкого гос. мед. института и кафедры микробиологии Казанского гос. зоо-вет. института (зав. кафедрой проф. М. В. Рево).

Бруцеллизат — аллерген для диагностической пробы на бруцеллез по Бюрнэ.

Проф. М. В. Рево.

Внутрикожная аллергическая проба Бюрнэ, предложенная им в 1922 г. для диагностики бруцеллеза у человека, целиком оправдала себя в клинической и эпидемиологической работе. С того времени был предложен ряд аллергенов, оказавшихся в той или иной степени пригодным для проведения реакции Бюрнэ у животных. Значительное количество этих препаратов обладает весьма нежелательными свойствами, от которых должен быть свободен аппарат, вводимый в повседневную практику. Разбив эти препараты на соответствующие группы, мы стараемся дать краткую характеристику каждой из них.

Группа I — корпускулярные антигены. Прообразом их служит антиген Дюбуа и Солье, несколько модифицированный проф. Вышелеским с сотрудниками. Представляя собой суспензию агаровых культур бруцелл в физиологическом растворе, антигены подобного типа являются наиболее полноценными, но и грубыми аллергенами. К основным недостаткам корпускулярных антигенов относится сравнительно трудная резорбция их (при внутрикожной пробе у человека, овец, морских свинок и кроликов), с которой связана возможность сенсibilизации здорового организма и наличие известного процента неспецифических и атипично протекающих реакций. Плотный инфильтрат, образующийся в результате введения корпускулярного аллергена в кожу человека, может быть довольно болезненным.

Группа II — лизированные антигены — в свою очередь разбиваются на три подгруппы. Первая подгруппа объединяет ряд препаратов под общим тер-

мином „бруцеллины“ (мелитины или абортинны). Они представляют собой фильтраты (аутолизаты) бульонных культур различных типов бруцелл. Эти аллергены готовят путем фильтрации старых бульонных культур бруцелл без концентрации препарата. Основным типом препаратов этой подгруппы является мелитин Бюрне, представляющий фильтрат 3—4 недельной культуры *Bg. melitensis*. Вторая подгруппа бруцеллинов готовится также из бульонных культур бруцелл с последующей концентрацией препарата. Примером этого типа бруцеллинов является абортин Пашковского, приготовленный в 1931 и испытанный им в 1932 г. Для приготовления своего абортин Пашковский выращивал культуры бруцелл на бульоне в течение 6 месяцев. Подобная культура выдерживалась в коховском аппарате 30 минут, выпаривалась до $\frac{1}{10}$ первоначального объема (при 60°) и фильтровалась через свечи. Модификацией этого препарата являются бруцеллины, изготовленные Мурзаевым и Цирро (Омск), Армаирской и Витебской вет опытных станциями и др. Все эти аллергены, отличаясь в деталях техники изготовления, основаны на принципе длительного выращивания бульонных культур с последующей их концентрацией. Основным недостатком этих бруцеллинов является определенная доля неспецифичности в реакции. Эта неспецифичность обусловлена наличием в препарате неспецифического протеинового комплекса (пептоны, аминокислоты) и зольного компонента бульонов (мясных, плацентарных, котиловонных), на которых выращивается культура *Bruccella*. К недостаткам бруцеллинов, приготовленных из мясо-пептонных бульонных культур бруцелл, необходимо отнести недостаточную чувствительность первой подгруппы их и констатируемую иногда высокую (неспецифическую) чувствительность к концентрированным препаратам подобного типа.

Непостоянство бактериального комплекса, освобождающегося в процессе натурального лизиса (при длительном выращивании в бульоне), не дает возможности рационально стандартизировать этот тип аллергена.

Третью подгруппу лизированных антигенов представляют так называемые бруцеллизаты—искусственно приготовленные экстракты бактериопротеина из чистых культур бруцелл. В эту же группу входят и очищенные растворы бактериопротеинов. Специфичность и активность бруцеллизатов определяется их составом: специфическим бактериопротеином, находящимся в растворенном состоянии. Выгодными сторонами действия бруцеллизатов на животный организм являются: а) специфичность, в значительной степени обусловленная отсутствием неспецифических дериватов белковых комплексов; б) цикличность течения аллергической пробы в громадном большинстве случаев; в) почти полное отсутствие неспецифических реакций; г) отсутствие сенсibilизирующих свойств в отношении здоровых индивидуумов. К недостаткам, свойственным бруцеллизатам, необходимо отнести констатируемое у некоторых из них слабое действие, зависящее от недостаточной насыщенности их специфическим бактериальным протеиновым комплексом. Этот существенный недостаток может быть устранен применением методов концентрации лизированных антигенов. Из антигенов этой подгруппы необходимо упомянуть о бруцеллизате проф Зародовского и сотрудников (1944), а также о группе очищенных растворов бруцеллезного протеина, приготовляемых по методу Мейера и Шенгольца, Гайлора и Хеддльсона (1934), основанном на принципе выщелачивания бактериального белка.

Работу по приготовлению и изучению препаратов для аллергических проб мы начали в 1934—35 гг. Мы остановились на приготовлении бактериальных лизатов из культур бруцелл по методу Грассе. Метод этот подкупал своей простотой и, согласно ряду сообщений самого Грассе и его сотрудников, позволял изготовить высокой эффективности антиген.

Грассе и его сотрудники не работали по приготовлению бруцеллизатов, ограничиваясь изучением эффективности действия полученных ими тифолизатов (т. е. лизатов из культур брюшнотифозной бактерии). Грассе, Грассе и Гори, Грассе и Левин констатировали, что тифолизаты, получаемые по методике Грассе,

обладают рядом весьма важных свойств, характеризующих полноценный антиген. Указанные авторы установили для тифолизатов такие свойства: 1) определенная токсичность, уничтожаемая прибавлением 0,2—0,5% формалина; 2) наличие значительной антигенной силы как у оригинальных (сырых) тифознотоксинов Грассе, так и у формализированных эндотоксинов; иными словами, тифозный эндотоксин, получаемый по Грассе, можно перевести в эндоанатоксин; 3) эндоанатоксин, введенный парентерально лабораторным грызунам, вызывает появление как общего, так и гуморального иммунитета; 4) сыворотка животных, получивших повторные впрыскивания формализированного тифозного эндотоксина — лизата, показывает агглютинирующие (в отношении суспензии *Bact. typhi abdomin.*) и флокулирующие (в отношении тифозного эндотоксина) свойства. Грассе и Левин (1937) установили, что формализированный тифолизат (эндоанатоксин), преципитированный (1—2%) квасцами, при впрыскивании кроликам и человеку ведет к накоплению в крови агглютининов Н и О типов.

Методика изготовления бактериальных лизатов по Грассе состоит в экстрагировании сухой бактериальной культуры попеременным замораживанием и лизированием ее в термостате. Густота высушенной бактериальной суспензии в опытах Грассе колебалась от 5 до 25 мг на 1 см³ физиологического раствора. Повторные процедуры замораживания и оттаивания в термостате, сменяющие одна другую, продолжаются в течение суток каждая. В среднем для удовлетворительной экстракции растворимого бактериального белка необходимо, по Грассе, 4 замораживания и 4 оттаивания (экстрагирования) в термостате.

В своих первоначальных работах по изготовлению бруцеллизатов мы придерживались оригинальной методики Грассе. Впоследствии, видоизменив основной метод, мы получили бруцеллизаты еще большей активности, чем приготовленные по оригинальной прописи Грассе.

В настоящее время нами выработаны три модификации методики изготовления бруцеллизатов.

Модификация 1. Штаммы типов *Brucella melitensis*, *abortus* et suis засеваются в пробирки или матрацы (в зависимости от потребности) на печеночный агар Хеддльсона. Трехсуточная культура на агаре смывается физиологическим раствором и устанавливается стандарт в 1 миллиардов б. тел в 1 см³. Суспензия разливается в пробирки и подвергается в течение 12 суток повторному замораживанию и лизированию в термостате (каждая процедура выполняется по 6 раз). Перед каждым замораживанием суспензия основательно выстихивается для равномерного распределения ее в пробирках. Технологический процесс заканчивается фильтрацией сырого лизата через свечи Шамберланда или пластинчатый фильтр Зейца; при отсутствии таковых допускается фильтрация через талковый фильтр, при этом, однако, значительно снижается активность полученного бруцеллизата (адсорбция). Нагретый при 60° в течение часа или формализированный бруцеллизат (0,2—0,5% формалина) заменяет оригинальный бруцеллизат с несколько пониженной активностью (в опытах на лабораторных грызунах).

Модификация 2. Трехсуточная культура бруцелл на печеночном агаре (рН 7,0—7,2) смывается с поверхности срезы, трижды промывается на центрифуге стерильным физиологическим раствором и в виде весьма густой суспензии высушивается в вакууме или, будучи разлитой в чашки Петри, — в термостате. Высушенная бактериальная масса суспендируется из расчета 25 мг на 1 см³ физиологического раствора. Замораживание и оттаивание в термостате ведется посуточно в течение 12 суток. В технику изготовления бруцеллизатов

введен новый прием: встряхивание. Весь процесс экстрагирования ведется таким образом: 1-е сутки — замораживание, 2-е сутки — экстрагирование в термостате в течение 18—20 часов; встряхивание в течение 4—6 часов. 3-и сутки — замораживание, 4-е сутки — термостат + встряхивание и т. д. Фильтрация и проч. — согласно модификации 1.

Модификация 3. Трехсуточная культура бруцелл на печеночном агаре смывается 60% этиловым спиртом и 3—4 раза промывается 70,8% и абсолютным спиртом на центрифуге. После полного высушивания в вакууме бактериальная масса экстрагируется при повторном взбалтывании в течение 5 суток (в термостате) в такой смеси: этилового спирта и эфира по 4 части, ацетона 2 части. После декантирования липоидрастворителей бактерийная масса вновь высушивается в вакууме и, высушенная, суспендируется в физиологическом растворе из расчета 25 мг на 1 см³ жидкости. Процесс замораживания, экстрагирования и проч. аналогичен описанному в модификации 2.

Наиболее активным оказался бруцеллизат, приготовленный согласно модификации 3; несколько меньшую активность показали препараты модификации 2 и 1. Бруцеллизаты, приготовленные по указанной нами методике, выгодно отличаются от лизированных антигенов, приготовленных из бульонных культур бруцелл. При содержании одного растворенного и специфического бактериального протеина, они легко стандартизуются как по содержанию в них общего азота, так и по феномену смерти экспериментально зараженных бруцеллезом лабораторных грызунов. В 0,1—0,2 см³ бруцеллизата № 3 содержится азота, определяемого по Кьельдалю $1\frac{1}{100000}$ мг. Смерть у морских свинок, экспериментально зараженных 30 дней тому назад культурой *Br. melitensis* или *Br. suis*, наступает в течение 8—12 часов после внутрибрюшинного впрыскивания 3—4 см³ бруцеллизата. Беременные бруцеллезные свинки при введении 1,2—1 см³ этого препарата погибают. Бруцеллезные кролики гибнут в течение 6—10 часов после внутривенного введения 2—3 см³ бруцеллизата на килограмм веса; беременные бруцеллезные крольчихи погибают от 1—1,25 см³ (на килограмм веса) бруцеллизатов всех трех модификаций через 6—10 часов после внутривенного введения. Испытание приготовленных нами бруцеллизатов в качестве препаратов для аллергической диагностики бруцеллеза было проведено на большом количестве экспериментально зараженных культурами *Br. melitensis*, *Br. abortus* и *Br. suis* морских свинок и кроликов.

Отдельно проведены опыты изучения аллергических реакций на экспериментально зараженных овцах и быках. Данные этих опытов составляют предмет отдельной статьи.

При изучении пригодности бруцеллизатов для аллергической диагностики бруцеллеза нами было поставлено 3 основных задания:

1) изучить характер аллергической реакции у экспериментально зараженных животных; 2) отметить отсутствие сенсибилизации у здоровых животных при введении нашего аллергена; 3) установить возможность или невозможность специфической десенсибилизации экспериментально зараженных бруцеллезом животных.

Предварительное изучение экспериментальной бруцеллезной инфекции убедило нас, что в течение первых 12—15 дней с

момента заражения аллергическая готовность организма не показывает устойчивости и кожные реакции (особенно у овец) в это время непостоянны или же неясно выражены. Хорошим тестом для изучения аллергических реакций являются животные, зараженные месяц тому назад, причем морские свинки более удобны для данных опытов, чем кролики. Реакция у бруцеллезных морских свинок и кроликов на введение бруцеллизата выражается в образовании отечно воспалительного инфильтрата на месте внутрикожного применения этого препарата. Чтение ее необходимо производить через 24, 48, 72 и 96 часов; по истечении этого срока инфильтрат подвергается обратному развитию. Наивысшего развития реакция достигает между 24 и 48 часами, но, как правило, инфильтрат формируется к 24 часам после впрыскивания аллергена. У кроликов реакция выражена менее интенсивно и, по временам, дает отклонения от общего цикла течения, запаздывая в своей развитии. Повторное введение бруцеллизатов совершенно здоровым и инфицированным бруцеллами животных, с интервалами в 15, 30 и 60 дней, показало нам абсолютное постоянство аллергической пробы у бруцеллезных и отсутствие ее у здоровых, неинфицированных животных. Бруцеллезные животные (морские свинки и кролики) всегда отвечали ясной реакцией на внутрикожное введение 0,1 см³ бруцеллизата; нормальные животные совершенно не реагировали на впрыскивание двойных и четырехкратных доз этого же препарата.

Таким образом, на основании данных эксперимента, бруцеллизат нужно считать вполне удовлетворительным препаратом для аллергической диагностики бруцеллеза. Положительными свойствами этого биопрепарата является его специфичность. Растворенный бруцеллопротеин вызывает у бруцеллезных больных ясную и типично протекающую аллергическую реакцию при интрадермальном введении даже самых незначительных количеств его. И это является особенно ценным в практической диагностике бруцеллеза.

Известно, что при хронических инфекционных процессах, протекающих, при более или менее выраженном состоянии „иммун-аллергии“, первоначальная аллергическая готовность организма подвергается постепенно дальнейшим перестройкам. В результате действия ряда неспецифических факторов антигенного характера организм, имеющий специфическую аллергию, начинает реагировать на ряд неспецифических аллергенов. У лиц, больных различными формами хронического туберкулеза и бруцеллеза, можно вызвать кожную, глазную и подкожную аллергические реакции не только туберкулином и мелитином, но и растворами гетерогенных, неспецифических белков — препаратами казеина, сывороткой крови лошади, куриным белком и т. д.

При затянувшихся процессах у бруцеллезных мы констатируем многогранную парааллергию. Кожа такого больного в равной степени может отвечать как на специфический препарат — мелитин (бруцеллин), так и на введение различных гетерогенных белков

и их дериватов. Вся разница в том, что аллергия организма в отношении специфического бруцеллопротеина выражена значительно интенсивнее, иными словами, применяя специфические и неспецифические белковые аллергены мы можем определить специфический титр бруцеллезной аллергии и дифференцировать аллергию от парааллергии, как вторичного, наслонившегося процесса.

Характер воспалительно-отечного инфильтрата у бруцеллезных больных, после внутрикожного введения того или иного препарата, по внешнему виду не дает никакой возможности дифференцировать специфический гиперергический процесс от неспецифического; некоторые данные можно извлечь при изучении лейкоцитарной формулы крови, которая на высоте гиперергического воспаления, вызванного специфическим аллергеном, содержит значительно больший процент эозинофилов, чем при воспалениях неспецифического характера. Этих данных, конечно, недостаточно для дифференциального диагноза специфической и неспецифической аллергий. Остается, таким образом, метод титрации аллергического напряжения.

Этот метод, в условиях эксперимента, принес нам весьма интересные данные. Морская свинка, зараженная бруцеллами, в течение первых 12 — 15 дней совершенно не реагирует на внутрикожное введение неспецифических аллергенов и, в большинстве случаев, не дает реакции с бруцеллизатами. После 15-го дня морская свинка систематически дает внутрикожные реакции с бруцеллизатом и, в течение определенного отрезка времени, не реагирует на посторонний белок. В дальнейшем животное начинает отвечать аллергической реакцией как на введение бруцеллизатов, так и на введение неспецифических белков — колилизатов, лошадиного белка и т. д. Можно ли в этом случае найти порог специфической аллергической реакции и отграничить ее от неспецифических, парааллергических реакций? Вполне возможно. Для этого применяется такая техника: мы выбриваем у морской свинки оба бочка, на которых, во внутрикожной пробе, титруем специфический и неспецифический аллергены. Впрыскивая в кожу одного бочка бруцеллезной морской свинки все увеличивающиеся дозы бруцеллизата, а в кожу другого бочка — различные дозы колилизата или различные разведения лошадиной сыворотки, мы констатируем какие из разведений неспецифического и специфического протеина дают положительную внутрикожную реакцию. Как правило, бруцеллизаты дают положительную реакцию в самых минимальных дозах (при перечислении на общий азот); неспецифические же аллергены вызывают реакцию в количествах, значительно превышающих дозу специфического (бруцеллезного) аллергена.

Имея подобного рода экспериментальные данные, мы считаем себя в праве рекомендовать приготовленные нами бруцеллизаты (бруцеллопротеин) для аллергической диагностики бруцеллеза у человека. Бруцеллизат, полученный по третьему из указанных нами методов, обладает особенно высокой специфичностью.

Этот препарат содержит белковый и полисахаридный компоненты бруцеллезного антигена и лишен балластных веществ, имеющих в изобилии в фильтратах бульонных культур, особенно же подвергнутых концентрации путем выпаривания. Поэтому наш бруцеллизат № 3 вызывает внутрикожную реакцию в самых ничтожных дозах у бруцеллезных больных и в значительно больших дозах не дает реакции у здоровых индивидуумов. Этот же препарат, повторно и многократно введенный в кожу здоровых индивидуумов, при условиях, не затрудняющих его резорпции (создание антигенного депо), никогда не приводит к сенсibilизации организма.

Литература. 1. Вышелесский С. Н., Сов. вет., № 4, 1934, — 2. Вышелесский с сотр., Бруцеллез с/хоз животных. Сборник, 1934. — 3. Мурзаев, Цирро, цит. по М. Капитанаки, У. Кучинскому. Бруцеллез с/хоз. жив. 1934. — 4. Пашковский, Сов. вет. № 13—14, 1932. — 5. Burnet Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunis, 1922. — 6. Dubois et Solier, Annales de l'Institut Pasteur, 1931 и 1933. — 7. Grasset E., C. R. Soc. Biol. t. 113 p. 20, 1933. — Ibidem t. 115 p. 1599. Ibidem t. 118 p. 765. — 8. Grasset et Gory, C. R. Soc. Biol. t. 96 p. 18, 1927. — Ibidem t. 97 p. 1211, 1927. — 9. Grasset et Lewin, C. R. Soc. Biol. t. 123, p. 682, 1933. Ibidem t. 125, p. 97 p. 13. — 10. Huddleson, Brucella injections in animals and man, 1934. — 11. Meyer and Schoenholz, Journ. of Infect. Dis., 1927.

Поступила в ред. 29.IV.1938.

Из Свердловского кожно-венерологического института (директор проф. С. Я. Голосовкер).

Клиническая ценность серологических исследований.

С. Я. Голосовкер и Л. В. Пономарева.

Серологические исследования при сифилисе открыли новую эпоху в диагностике, в распознавании скрытых форм процесса. Вполне понятно, что задача исследователей была разъяснить сущность этих реакций, уточнить их постановку и вместе с тем значительно упростить технику для возможности более широкого их применения.

В теоретическом обосновании серореакций мы до сих пор не имеем вполне удовлетворяющей нас трактовки, но громадное количество предложенных реакций значительно облегчает нам во многих случаях и диагностику.

Количество серологических лабораторий в СССР за последние годы значительно увеличилось, однако они еще не заняли в системе здравоохранения соответствующего места. Отдаленность ряда районных центров и отдельных пунктов от серологических лабораторий делают необходимым ряд организационных выводов. Последние станут более ясными после выявления ценности серореакций в диагностике сифилиса и выявления скрытых форм.

Накопившаяся литература уже достаточно выявила ценность отдельных серореакций. Здесь необходимо иметь в виду реак-