

Проф. Р. Р. ГЕЛЬТЦЕР

## Этиология и бактериологическая диагностика инфекционной желтухи

Из кафедры микробиологии Казанского гос. медицинского института (завед. кафедрой проф. Р. Р. Гельтцер)

Заболевания инфекционной желтухой, имеющие склонность к эпидемическому распространению, известны с давних времен. Из самых ранних эпидемий такого рода известна эпидемия в Берлине, относящаяся к 1699 г. по Геннингу. Чаше эти эпидемии встречаются в военное время в армиях, в связи с чем в период империалистической войны 1914—18 г.г. началось наиболее интенсивное изучение этиологии этого заболевания. Правда, еще в конце XIX и начале XX столетия при попытках изучить бактериологию этого заболевания ряд авторов (Мюнцер и Жиро, Егер, Фрейнд, Банти, Шеель, Белоголовый и др. — цитировано по Глухову) выделил из крови, мочи, пунктатов из печени и селезенки, желчи, содержимого двенадцатиперстной кишки, фекалий при жизни, а отчасти и вскоре после смерти — стафилококков, стрептококков, кишечную палочку, протей, палочку, близкую к бац. Фридендера; затем часто стали находить представителей кишечного тифозного и группы. Так, в более позднее время, относящееся к 1915 и 1916 гг., отмечаются находки бацилл брюшного тифа и паратифов.

Фругони и Канната (цитировано по Глухову) в 1915 г. из испражнений и, в особенности (в 25 случаях из 100) при исследовании содержимого 12-перстной кишки выделили бац. Раг. В Саррелэ и Клюне (цитиров. по Глухову) при посевах крови в 66 случаях выделили палочку брюшного тифа — в 30 случаях и Раг. В. — в 102 случаях, кроме того, еще в большем ряде случаев были обнаружены палочки, то близкие к Раг. А., то приближающиеся к Раг. В.

Таким образом, в связи с этими последними исследованиями, этиология инфекционной желтухи становилась яснее, и большинство авторов склонно было считать возбудителем этого заболевания представителей кишечного тифозного группы. Однако, в ряде случаев при исследовании инфекционной желтухи бактериологическое исследование не давало положительных результатов, и, таким образом, причина этих заболеваний оставалась неизвестной.

В 1915 г. в Японии Идо и Инада и одновременно и независимо от них в Германии Гюбнер и Рейтер открыли нового возбудителя этого заболевания, который получил название спирохета (*leptospira*) *icterohaemorrhagiae* (Идо и Инада), *spir. icterogenes* (Уленгут и Фромме), *spir. nodosa* (Гюбнер и Рейтер), *spir. febrilis* (Ферворт). Находки эти были подтверждены затем во всех странах (Уленгут и Фромме, Берманн и Шюльцер, Рено, Мартен, Пети и ряд других авторов) и у нас в СССР (Перетц, Базиловский и др.). В скором времени было установлено, что имеются еще спирохеты родственные этому виду, вызывающие семидневную лихорадку (*spir. hebdomadis*) и так назыв. Вейлеподобные спирохетозы, как например, при водной, болотной, иловой, жатвенной и полевой лихорадке. К этому же виду относится и спирохета *pseudocicterogenes*, встречающаяся в воде и отличающаяся от *spir. icterogenes* отсутствием вирулентности, каковую, однако, она быстро приобретает в организме животных или при особых условиях выращивания.

Таким образом, теперь с открытием нового возбудителя инфекционной желтухи, при дальнейших бактериологических исследованиях вспышек этого заболевания этиологическим фактором оказывались или представители кишечного тифозного группы, преимущественно бац. Раг. В. (Рапопорт, Лидкин, Марценовский, Шапшев, Руднев, Глухов и др.), или *spir. icterogenes*, а в некоторых случаях были описаны смешанные

инфекции, вызванные спирохетами и бац. брюшного тифа или паратифов (Гарнье и Рейлли, Видаль, Вейсенбах и др.) (цитировано по Глухову).

В связи с освещением вопроса об этиологии эпидемической желтухи, необходимо вспомнить теорию Санарелли. По этой теории патогенеза эпидемической желтухи, спирохеты в большинстве случаев не способны вызвать заболевание. Спирохеты лишь сенсibiliзируют организм и способствуют возникновению вторичных инфекций бац. брюшного тифа, паратифов (гл. обр. Раг. В), а также стафилококками, стрептококками и, возможно, анаэробами. Если вторичная инфекция не развивается, то размножение спирохет может остаться для организма безнаказанным (цитировано по Г. В. Эпштейну).

Имея в виду настоящим сообщением привлечь внимание к вопросу об иктероспирохетозе, неизвестном или мало известном в Татари, в частности в г. Казани, мы и остановимся подробнее на свойствах спирохеты (лептоспир) *icterogenes*.

Эта спирохета имеет мелкие завитки, и благодаря нервномерным вторичным завиткам тело ее имеет вид неправильной С-или S-образной нити, на концах тела часто наблюдаются пугловчатые утолщения. В темном поле зрения спирохеты представляются в виде гибких, очень подвижных нитей, с разнообразными движениями. Размножение происходит путем поперечного деления. Окрашиваются спирохеты с трудом по Гимза, в течение многих часов, и имеют розовый цвет; применяя протраву (3—5% танин), можно значительно сократить время, необходимое для окраски, и в этом случае возможна окраска и разведенным карбол-фуксином; при серебрении спирохеты получаются черными или коричневыми.

Что касается выращивания этих спирохет на искусственных питательных средах, то оказывается, что они крайне нетребовательны, по сравнению с другими видами спирохет, в отношении содержания сывороточного белка в питательных средах, и выращивание их возможно в разведенной в 30 раз водой инактивированной сыворотке кролика (Уленгут), возможен рост даже в средах без сыворотки, в этом случае последняя заменяется раствором пептона (Шюффер и Вольф). Правда, на средах с добавлением кроличьей сыворотки размножение наступает быстрее. Наиболее благоприятная реакция среды—pH 7,2—7,8.

Эти спирохеты особенно чувствительны к соли: так, при замене дистиллированной или водопроводной воды физиологическим раствором хлористого натрия, если первые генерации и получаются, то дальнейшее поддержание культур становится невозможным. Оптимальной температурой для выращивания большинство авторов считает от 15 до 30°, практически обычно выращивание производится при 25°. Рост отмечается на 5—8-е сутки. Выращивание всегда производится под слоем жидкого парафина. При этом пышный рост спирохет обусловливается не выключением воздуха, а устранением испарения, загрязнения и сохранением на определенном уровне pH среды. Благодаря длительной жизнеспособности, пересевы культур могут производиться через 1—3 месяца.

В последние годы иностранными авторами с большим успехом применяется среда Кортгофа, пригодная как для получения массовых культур для антигенов, так и для получения гемокультур. Эта среда состоит из смеси солей ( $\text{NaCl}$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{CaCl}_2$  и фосфорно-кислых натрия и калия) и пептона, растворенных в дистиллированной воде с добавлением 8% сыворотки кролика. Кроме указанных методов выращивания этих спирохет на жидких питательных средах, разработаны также методы выращивания и на плотных питательных средах с агаром (Уокер, Базилевский, Адамский). Эти среды в общем состоят из агара, приготовленного на водопроводной воде с добавлением кроличьей сыворотки. Плотные среды применяются для изолирования спирохет при засеве воды, причем иногда вода предварительно засеивается на жидкие среды (Цюльцер, Гиндле, Фегелес) с целью обогащения спирохетами посевного материала. По способу Гиндле среда готовится из кала (100 г на 1 л. воды), а по Фегелесу вместо кала употребляется осадок пивного сусла. По Цюльцер к исследуемой воде с песком или илом добавляется кроличья сыворотка (4—5 см<sup>3</sup> на литр). Кроме того, для выделения спирохет в чистой культуре из смешанной, применяются следующие способы: замораживание (Цюльцер), центрифугирование (Мохтар), фильтрование (Ангерер, Тиммерманн, Бауер), введение свинке с последующим посевом крови, органов на питательные среды (Берман и Цюльцер, Аппельманн).

В отношении резистентности спирохеты *icterogenes* к внешним влияниям надо отметить быстрое отмирание ее при высушивании (в течение 3 часов), быстрогибель в жидкостях с кислой реакцией (соляная, уксусная кислота 1:10,000), чувствительность к солям ( $\text{NaCl}$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{K}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ). Так, при содержании в воде 0,85%  $\text{NaCl}$  рост спирохет останавливается; то же в отношении углеводов и желчи. При действии солнечного света спирохеты погибают через два часа. Нагревание при 50—55° вызывает гибель через полчаса, в 2% мыльно-карболовом растворе спирохеты гибнут через 15 минут. В дистиллированной воде спирохеты живут до 7 дней, в моче

выживают до 10 дней; спирохеты устойчивы к низким температурам; они легко переносят 4 повторных замораживания до  $-18^{\circ}$  по 2 часа.

К заражению спирохетами *icterogenes*, помимо человека, оказываются восприимчивыми животные, которые по степени восприимчивости могут быть расположены в следующем порядке: морская свинка, кролик (молодые), крыса,мышь-полевка, коза. Мнение о невосприимчивости свиньи опровергается сообщениями Кларенбека и Винссера (193), описавших случаи инфекции, вызванные *spig. icterogenes* у поросят. Виртом установлен лептоспироз у кошек и собак, Миссером и Дедие—у ребристых лисиц.

Вирулентность спирохет весьма изменчива и подвержена большим колебаниям, в зависимости от условий их существования. Так, спирохеты, выделенные из мочи человека, морской свинки или крысы, обычно менее вирулентны, чем спирохеты, одновременно выделенные из их крови. Спирохеты, выделенные из организма морской свинки, оказываются иногда более вирулентными, чем выделенные от мышей, крыс и собак. Установлено, что крысиные штаммы могут резко отличаться по своей вирулентности для морских свинок (цитировано по Г. В. Эпштейну).

В последние годы установлено носительство спирохет крысами, причем длительность носительства может доходить до 2,5 лет (Шюффер).

Культуры спирохет, выделенные от больных, постепенно теряют свою вирулентность, однако, вирулентность после 3 пассажей через животных может быть восстановлена, а иногда угасшая вирулентность восстанавливается самостоятельно. Спирохеты, выделенные из воды, приобретают патогенные свойства для морских свинок после продолжительного выращивания на белковых средах.

Вирулентная культура *spig. icterogenes* может вызвать у морской свинки типичную инфекцию через 3—5 суток, при введении ей 0,00001 культуры. Кровь перенесших иктероспирохетоз обладает резко выраженными защитными свойствами; так, например, 0,01 см<sup>3</sup> сыворотки нейтрализует 1 см<sup>3</sup> вирулентной крови морской свинки (цитировано по Г. В. Эпштейну).

В сыворотке крови человека иммунные свойства появляются обычно на 8—15-е сутки и сохраняются долгое время. Так, титр агглютининов в первые 50 дней может доходить до 1:34 000 и даже до 1:50 000, после 50 дня титр быстро падает до 1:700, между 15 и 30 месяцами—доходит до 1:300, а в 33%—до нуля (Берманн и Цюльцер, Шюффер (цитировано по Г. В. Эпштейну).

В диагностическом отношении использование агглютинации весьма ценно, так как у здоровых она никогда не достигает таких титров, как у больных. Р. агглютинации может быть использована в виду длительного, как было указано, сохранения агглютининов в крови и для ретроспективного диагноза. Эта реакция позволяет также установить зараженность или носительство спирохет крысами, а также и собаками, как это было выяснено в 1936—37 г. в Штутгарте, Кельне, Риме и др. городах путем обнаружения агглютининов и лизинов в отношении *spig. icterogenes* в крови собак (Шлоссбергер, Даар, Рейтано и Мозелли и др.).

При иммунизации животных убитыми или живыми спирохетами агглютинационный титр может доходить до 1:1000000, а титр лизинов—до 1:50000 (Петти, цитировано по Г. В. Эпштейну).

При помощи иммунных сывороток имеется возможность, на основе отличия серологических свойств, провести определенную грань между отдельными расами человеческих, крысиных и водных штаммов спирохет, причем нередко оказывается, что крысиные и человеческие штаммы обладают общностью иммунологических свойств.

Бактериологическая диагностика инфекционной эпидемической желтухи, имея в виду двойной этиологический фактор *spig. icterogenes* и представителей кишечнотифозной группы (возможна и смешанная инфекция), должна соответственно этому проводиться в двух направлениях, т. е. в направлении установления в данном заболевании роли бактерий брюшного тифа и паратифа, или *spig. icterogenes*. Что касается установления роли представителей кишечнотифозной группы, то в этом случае бактериологическая диагностика в настоящее время не представляет каких-либо затруднений, она является обычной и повседневной, а потому мы на ней и не будем останавливаться. В отношении же определения роли *spig. icterogenes* диагностика, в зависимости от периода заболевания, должна состоять в следующем:

1. В первые 7—8 дней засеивается 2—3 см<sup>3</sup> крови в 10 см<sup>3</sup> стерилизованной водопроводной воды (Мантейфель) или в среды Ферворта, Вольфа или Шюффер-Вольфа, представляющие собой в основном 0,1% раствора пептона в водопроводной воде, с 5—10% инактивированной кроличьей сыворотки. Эти среды до прибавления сыворотки должны обладать реакцией pH 6,8—7,2, что достигается прибавлением нормального раствора фосфорной кислоты, или же 5—10% фосфатной буферной смеси (в среде Вольфа). Кроме того, по 3—5 см<sup>3</sup> крови вводится подкожно или интраперитонеально морской свинке. Возможно и микроскопическое обнаружение спирохет



в крови. Для этой цели цитратную кровь (2—3 см<sup>3</sup> крови смешивают с 2—3 см<sup>3</sup> 2% раствора *Natrii citr.*) центрифугируют с последующим отсасыванием прозрачной жидкости и повторным центрифугированием (всего 3 раза) 6 минут при 1500 оборотах, 10 минут при 150 обор. и 30 мин. при 300 обор. достигают обогащения в 800—2000 раз; осадок исследуется в темном поле зрения (Шюффнер и Зибург). Иногда возможно и непосредственное обнаружение спирохет без предварительного обогащения; в этом случае капля крови исследуется в цитратном бульоне Терских (цитировано по Г. В. Эпштейну).

2. Начиная с 9—10-го дня болезни и позднее (лучше между 13-м и 20-м днями) собранная асептически катетером в количестве 250—500 см<sup>3</sup> моча после центрифугирования исследуется под микроскопом, а также вводится морской свинке и засеивается на питательные среды.

Необходимо отметить, что выделение культур от больных из крови и мочи далеко не всегда удается. В отношении эффективности исследования лучшим способом является заражение морских свинок. После 6—11 суток инкубации свинка заболевает, ее убивают и взвесь растертых органов (печень, почка) засеивают для получения культуры на питательные среды. Из крови тоже может быть выделена культура. При заражении в яйцо взвесью из органов больной свинки через сутки наступает отек мошонки и температура у животного повышается до 40°.

3. Серодиагностика при распознавании инфекционной желтухи имеет огромное значение и, в особенности, этот метод приобретает большую ценность, когда указанные способы бактериологической диагностики не могли быть проведены или не дали положительных результатов. Как было сказано ранее, иммунные свойства, в частности, агглютинины, в крови больного проявляются уже с 8—15-го дня, и при этом титр становится довольно высоким. Так как антитела сохраняются до 2—2,5 лет (67%) этот метод оказывается пригодным и для ретроспективной диагностики, что весьма ценно в эпидемиологическом отношении.

Таким образом серологическое исследование путем постановки р. агглютинации с культурами *spir. icterogenes* можно производить, начиная с 8-го дня болезни.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гельтцер Р. Р., О культивировании патогенных спирохет. *Анналы Мечниковского ин-та*, т. IV, в. 2, 1936.—2. Dahr P., *Klin. Woch. S.* 1491, 1937.—3. Henning, *Цитир. по Глухову*.—4. Klarenbeck A. u. Winsser J., *Bull. Inst. Pasteur*, № 3, t. 36, 1938.—5. Miessner H. u. Dedie K., *ibid*—6. Rimpau W., *Schlossberger H. u. Kathe*, *Bull. Inst. Pasteur*, № 3, t. 37, 1939.—7. Uhlenhuth P. u. Fromme W., *Handb. Kolle, Kraus u. Uhlenhuth*, 3 Aufl., Bd. VII, 1930.—8. Wirth D., *Bull. Inst. Pasteur*, № 3, t. 36, 1938.

Поступила 28.VI. 1939.