

Материалы к вопросу о реакции Dick'a и активной иммунизации против скарлатины.

Сообщение I. Результат обследования по Dick'u детей
гг. Казани и Свияжска ¹⁾).

Н. Н. Благовещенского.

(С 2 кривыми).

Хотя вопрос об этиологии скарлатины до последнего времени не может считаться окончательно разрешенным, тем не менее вопрос о реакции Dick'a, теснейшим образом связанной с ролью стрептококка при этой болезни, занимает внимание многих. Имея в виду проведение активной иммунизации против скарлатины в Казани, Микробиологический Институт решил предварительно провести кампанию обследования на реакцию Dick'a. К этому нас побуждали и интерес к реакции, как таковой, и желание выяснить ее эпидемиологическую ценность. В настоящем сообщении я и имею в виду изложить те результаты и впечатления, которые нами были получены при производстве этого массового обследования организованных детей гг. Казани и Свияжска ²⁾).

Как известно, реакция Dick'a есть реакция на внутрикожное введение человеку токسينа, полученного от скарлатинозного стрептококка. В нашем распоряжении имелось 10 различных токсигенных штаммов скарлатинозных стрептококков, частью выделенных из крови скарлатинозных трупов в Казани, частью полученных нами со стороны. Для изготовления реактива Dick'a были взяты наиболее токсигенные штаммы — штамм Ленинградский и штаммы, полученные из Америки, от Dick'a и Zingher'a. Токсин изготовлялся сначала на сыровоточно-пептонном бульоне (рН=7,8). Сила получаемых вначале токсинов на этой среде была такова, что при разведении в 1000 раз они давали в дозе 0,1 куб. с. ясно-положительную реакцию у чувствительных субъектов, — это и есть т. н. кожная доза токسينа, характеризующая его единица. Предварительное титрование токсинов производилось всегда с неизменной любезностью д-ром А. Ф. Агафоновым на скарлатинозных больных Заразной больницы, дававших в первые дни болезни положительную реакцию на токсин.

¹⁾ Доложено в Обществе Врачей при Казанском Гос. Ун-те 3/VI 1926 г.

²⁾ В этой большой работе участвовал, в различной степени, ряд лиц — стажеры нашего Института и врачи детских домов Ярославцева и Клементьева. Особенно мы должны здесь отметить стажеров гг. Фирсову и Фазлулину, выполнивших значительную часть обследовательской работы.

К титрованию токсина на человеческом материале мы поневоле прибегли, так как животные или вовсе нечувствительны к этому токсину, или очень мало и во всяком случае недостаточно для этой цели чувствительны. В поисках за восприимчивым животным, которое могло-бы нам заменить в этом отношении человека, мы испытали целый ряд животных: морскую свинку, кролика (молодой альбинос), белых мышей и крысу, собаку, кошку, поросенка и голубя, но все они не дали нам сколько-нибудь удовлетворительных результатов. Лучшие результаты дали нам жеребенок (инъекция в слизистую губы), овца и особенно коза. Коза, оказалось, реагирует на 2—3 к. д. токсина; однако не все козы оказываются чувствительными и не в один срок развивают реакцию; пользоваться же долго одной козой нельзя—в виду развивающегося местного иммунитета ткани,—тем более, что инъекции у нее возможны лишь на ограниченных участках кожи, главным образом в области гениталий, где имеется тонкая кожа. Если прибавить еще то немаловажное обстоятельство, что экспериментировать над такими крупными животными, как, напр., лошадь, чрезвычайно неудобно (вследствие болезненности внутрикожных инъекций), то отсюда станет вполне понятным, если мы скажем, что единственно-верным объектом, особенно для установления точного титра токсина, к сожалению, является лишь человек. Установление же точного титра токсина является первой необходимостью, определяющей весь успех дела.

Опыт показал, что уже незначительное отступление от титра влечет за собой большие ошибки в исходе реакции. Сама установка титра должна быть произведена на большом детском материале, как указывают и сами Dick'i, причем не следует ограничиваться совпадением результатов со стандартным токсином лишь на нескольких лицах. И наш личный опыт, и литературные данные свидетельствуют, что чувствительность детей к токсину варьирует в широких пределах. Под нашим наблюдением имеется ребенок (7 лет), дающий положительную реакцию на $\frac{1}{3}$ к. д., причем ее интенсивность лишь несущественно разнится от реакции, даваемой им же на целую кожную дозу. С другой стороны у лиц менее чувствительных реакция получается отрицательной, лишь только мы переходим, хотя-бы на незначительную величину, установленный титр в смысле его повышения (resp. большего разведения). Отсюда вполне понятна та тщательность и точность, с которыми нужно делать требуемые разведения вытитрованного токсина. Нечего и говорить, что реактив должен быть приготовлен и разлит абсолютно стерильно. Как правило, должно быть принято, что ампулла, однажды открытая, не может быть вновь запаяна и оставлена на другое время; равным образом, будучи открыта, она не может переноситься в другой дом. Малейшее бактериальное загрязнение, пыль—могут дать сбивчивые, трудно растолковываемые результаты. Во избежание попадания органических веществ в раствор токсина с употребляемой в обычной лабораторной работе посуды мы выделяем специально для токсина отдельные пипетки и флаконы для разведения, предельно тщательно обрабатываем их кипячением в растворе хамелеона. В отличие от реактива Schick'a реактив Dick'a (разведенный по титру скарлатинозный токсин) является устойчивым на протяжении недель, при условии хранения его в запаянных ампуллах в темном и прохладном месте.

При параллельной проверке, произведенной на 60 здоровых детях с нашим токсином и токсином-штандартом, полученным нами от проф. Коршуна, существенных расхождений не получилось. Техника производства реакции та же; что и при реакции Schick'a, только реактив Dick'a вводится интрадермально в количестве 0,1 куб. с., а не 0,2, как реактив Schick'a. В качестве контроля, для отличия могущих быть у некоторых лиц ложных реакций на неспецифические вещества реактива, применяется на другой руке в той же дозе тот же реактив, но инактивированный в течение часа при 100°C в Косх'овском аппарате (лучше, чем в водяной бане, где легкие ампулы всплывают на поверхность, заворачивание же в вату снижает t^0 прогрева ампулл, а это обстоятельство, как показал опыт, всегда влияет на исход реакции).

В случае положительной реакции у восприимчивого субъекта уже через 10—15 часов замечается на месте и вокруг укола гиперемия различной интенсивности, а иногда, позже,—инфильтрат и болезненность. Как правило, общей реакции не бывает. Развитие местной реакции здесь идет быстрее, нежели реакции Schick'a. Maximum ее приходится на 22-й час после инъекции, а затем следует быстрое увядание, особенно слабых реакций. Таким образом приходится отметить особую лабильность реакции Dick'a, и потому строгие требования к чистоте препарата, стерильности шприцев (кипячение не менее 10 м.) и тщательной дезинфекции кожи здесь особенно должны иметь место, ибо такую сравнительно эфемерную гиперемию, которая бывает при слабо-положительной реакции, легко может дать простое несоблюдение вышеуказанных предосторожностей. Сравнительно скоропреходящий характер реакции Dick'a по сравнению с реакцией Schick'a объясняется тем, что действие стрептококкового токсина направлено на кожные капилляры и не затрагивает существенно эпидермальных клеток, как это отмечается по отношению к дифтерийному токсину при реакции Schick'a. Лишь в тех случаях, когда имеется резкая положительная реакция с инфильтратом, наблюдаются и шелушение, и слабая пигментация.

В виду того, что скарлатинозный токсин содержит больше белковых тел (состав питательной среды) и получается часто меньшей силы, чем дифтерийный токсин (вследствие чего тогда приходится разводить его в меньшее количество раз), % ложных реакций здесь получается несколько больше, чем при р. Schick'a. С целью устранения этого досадного обстоятельства большинство токсинов приходится очищать от неспецифических протеинов.

Мы применяем для этой цели метод Huntoon'a в модификации Zoeller'a, не производя диализации: 20% NaCl in substantia в присутствии уксусной кислоты осаждают нетоксиноносные альбуминоиды, и фильтрат подщелачивается $n/10$ NaOH; подщелачивание мы производим до [H], равной [H] исходного токсина ($pH=7,2$), затем производится фильтрация через свечу.

Несмотря на удаление из нашего токсина протеинов (тонкие реакции на белок отрицательны), псевдореакции у нас все же получались. Относительно этих ложных реакций до сих пор еще не установлено, в какую группу реакций,—положительных или отрицательных,—их нужно относить. Park, напр., считает все псевдореакции практически за положительные, ибо, говорит он, часто бывает невозможно определить при

положительной реакции на контроле, что мы имеем перед собой, — отрицательную псевдореакцию, или же положительную — комбинированную, указывающую на чувствительность субъекта и к протенину, и к токсину. На этом основании Park не употребляет совсем контроля, ограничиваясь лишь одной инъекцией активного токсина. Мы в своих вычислениях отнесли псевдореакцию в группу отрицательных реакций.

Оценка всех реакций производилась нами по схеме Zingher'a ($\pm$, $+$, $\pm$, $\pm$ — выражающие различные степени положительных реакций от резкой гиперемии с инфильтратом до легкой розовой гиперемии на пространстве около 1 см.; комбинированная положительная реакция, отрицательная реакция, отрицательная псевдореакция и реакция парадоксальная, чрезвычайно редкая, когда на контроле получается положительная реакция, а активный токсин дает отрицательную).

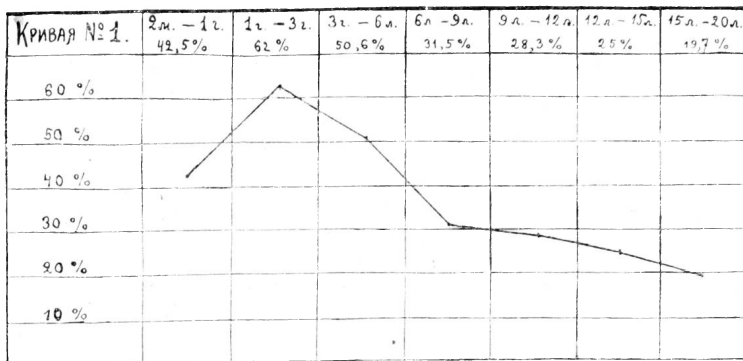
Стремясь уменьшить количество получаемых псевдореакций, мы изготовили токсины точно по Dick'у, с прибавкой к бульону человеческой крови вместо крови или сыворотки животного; однако псевдореакции и с таким токсином у нас все же получались, несмотря на его силу (1 куб. с. содержит 25,000 к. д.). В самое последнее время нами изготовлен токсин на бульоне, почти совсем не содержащем инородного белка (по Lam'u); бульон этот изготовлялся из экстракта человеческой плаценты плюс 1% пептона, к которому прибавлялась перед засевом человеческая дефибрированная кровь. Токсин этот нами еще не проверен, как следует, но псевдореакции, повидимому, и при нем встречаются. Значения этих опытов с различными токсинами в связи с получающейся псевдореакцией мы коснемся в следующем сообщении, сейчас же перейдем к обзору тех результатов, которые мы получили при обследовании.

Мы подвергли обследованию до 1 мая 1926 г. все детские интернаты с постоянным составом в Казани и Свияжске и, кроме того, значительное количество школьников. Общее число продиккизированных нами детей равняется 3,000; однако сводка касается лишь 2 660 детей (часть регистрационных карточек по причине их неудовлетворительности в каком-либо отношении я принужден был исключить). На общее количество обследованных и принятых к учету приходится положительных реакций 716, или 27.3% всех случаев (несколько ниже данных Zingher'a, Москвы и Ленинграда). Обследованные были в возрасте от первых месяцев жизни до 20 лет.

Если распределить весь наш материал по возрастным группам, то можно подметить, что % положительных реакций с закономерной правильностью понижается с повышением возраста, как это наглядно изображает наша кривая № 1.

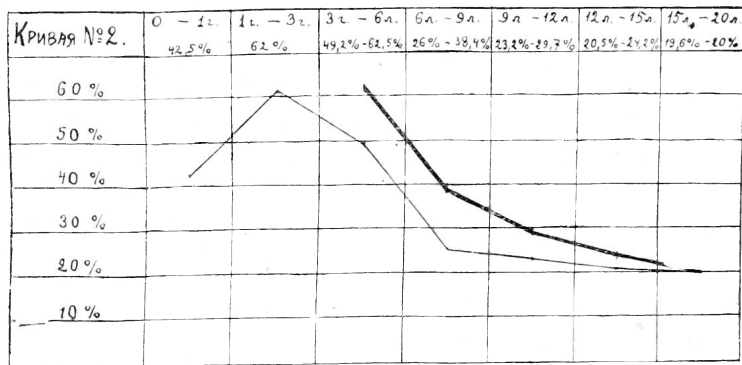
Такое же соотношение процента положительных реакций с возрастом мы встретили и при реакции Schick'a, проводя в свое время обследование на нее вместе с проф. Е. М. Лепским и д-ром В. М. Федоровым. Более низкий % положительных реакций у детей до 1 г. по сравнению со следующим старшим возрастом легко объясняется существующим еще плацентарным и трофогенным иммунитетом у половин детей этого возраста. В следующем возрасте потеря этого пассивного иммунитета наблюдается уже, приблизительно, у $\frac{2}{3}$ всех детей. Далее идет неукоснительное падение % положительных реакций в связи с приобретаемым детьми иммунитетом, в зависимости, — как принимает большин-

ство авторов,—от все чаще и чаще встречающегося с возрастом микробного контакта. Таким образом, судя по р. Dick'a, иммунитет при скарлатине развивается по тем же законам, что и при дифтерии.



Исследуя школьников Нью-Йорка одновременно на реакцию Schick'a и реакцию Dick'a, Zingher нашел, что в подавляющем большинстве случаев результаты обеих реакций сходятся у одних и тех же детей.

Нам интересно было провести еще другую параллель с дифтерией, именно, различие в иммунитете между детьми интернированными и школьниками, принимая во внимание те санитарные условия, в которых живут первые. Ответ на это дает нам следующая кривая, составленная для школ и интернатов — для большей убедительности по возрастным группам:



Эту вторую параллель с дифтерией приходится объяснять опять-таки „контактным иммунитетом“, вследствие возможных скрытых, нераспознанных легких инфекций, приобретаемых скученными детьми друг от друга (A. Zingher). Известно, что именно такие легкие, abortивные формы инфекции и дают зачастую особенно стойкий иммунитет. Что касается школьников самих по себе, то нужно сказать, что в настоящее время социальная среда, в которой находятся у нас школьники, в значительной степени нивелирована: все школы — коммунальные, и мы не можем здесь проверить влияния социального фактора на восприимчивость.

Но это влияние, вполне понятное хотя-бы и из нашего сопоставления школьников с интернантами, совершенно определенно подчеркивается, помимо американских авторов (Zingher: народные школы 21,6% положительных реакций, частные—83,7%), и недавно опубликованными польскими работами (Sparrow: возрастная группа от 8 до 10 л. дает в коммунальных школах 52,1% положительных реакций, в лицеях—71,1%).

Что касается пола, то среди находившихся в одинаковых условиях интернированных детей разницы в восприимчивости у девочек и мальчиков нам отметить не удалось. Среди же школьников % положительных реакций у девочек был немного выше, чем у мальчиков. Очевидно, если и можно говорить здесь о влиянии пола на восприимчивость, то причина его лежит не в самой конституции мужского и женского организма, а лишь в различном образе жизни мальчиков и девочек.

Сопоставляя общий % положительных реакций, полученных нами у татар, с общим % положительных реакций у русских, мы замечаем пониженную чувствительность татар в сравнении с русскими: татары дали нам 23,1% положительных реакций, русские—29,9%. Оставляя анализ этого явления до следующего очерка, скажем, хотя-бы в самих кратких словах, о значении реакции Dick'a.

Показывает-ли эта реакция иммунитет к скарлатине? На основании целого ряда фактов,—как наличие стрептококка в организме скарлатинозных больных, успешная антитоксическая серотерапия, получение иммунитета у человека от иммунизации бактериальной вакциной и токсином (многие американские работы), характерная реакция на эту иммунизацию, биологические реакции с вакциной у человека (Falconi, Аристовский и Агафонов) и пр.,—можно думать, что стрептококк, токсин которого применяется для реакции Dick'a, если не является возбудителем скарлатины, то, во всяком случае, несомненно, принимает громадное участие в ее патогенезе, и без участия его скарлатины, повидимому, не бывает.

Независимо от того, как разрешится вопрос об этиологии скарлатины, мы должны здесь отметить прежде всего, что максимальный % положительных реакций Dick'a совпадает в возрастном отношении (3—8 л.) с максимальным % заболеваемости детей скарлатиной. Большинство статистических данных подчеркивает, далее, что % заболеваемости среди Dick-отрицательных детей—ничтожный. Не говоря уже о данных Dick'ов и Zingher'a, обследование в Ленинграде показало то же самое. Из новых данных можно упомянуть о работе, проделанной в Варшаве Sparrow'ым: в то время, как среди 1700 Dick-отрицательных детей был только один случай скарлатины, среди 3897 Dick-положительных заболело 28. Таким образом факт невосприимчивости к данной болезни у Dick-отрицательных, детей, повидимому, может считаться принципиально установленным.

Труднее ответить на другой вопрос: все-ли дети, реагирующие по Dick'у положительно, обязательно восприимчивы к скарлатине? Здесь прежде всего необходимо иметь в виду тот факт, что в известном % случаев (у Zingher'a—в 7%) реакция Dick'a выпадает положительной у реконвалесцентов. На 43 реконвалесцента, обследованных нами в местной Заразной больнице (39 русских и 4 татарина), ясных положительных, хотя-бы и слабых, реакций обнаружилось всего лишь 3 и 8—

псевдореакций. Наш материал мал, чтобы делать вывод, но и у других авторов % теперь не столь уж велик, как это указывалось раньше. Нужно при этом сказать, что количество положительных реакций вообще зависит не только от чувствительности организма к токсину, но, конечно, и от силы (resp. количества) самого введенного токсина. Очевидно, встречающиеся положительные реакции реконвалесцентов и вообще когда-то болевших в том случае, если они действительно иммунны, надо объяснять количеством циркулирующего антитоксина, недостаточного для нейтрализации вводимого при р. Dick'a токсина, но, возможно, достаточного для поддержания невосприимчивости к заражению в обычных естественных условиях. Образовать же местно антитоксин под влиянием небольшого местного специфического возбуждения, ответить антитоксином на введенный токсин и нейтрализовать его—эти лица не могут или, вернее, не успевают в силу их неярко выраженной местной реактивности в смысле Zoeller'a. Но общая реактивность у них все же есть, и она скажется, как только организм получит достаточно сильное возбуждение в виде нового инфицирования и ответит новой нужной продукцией антитоксина, достаточной для предотвращения заболевания, если до этого его находилось недостаточно. „Клетка,—сказал когда-то Bordet,—раз испытавши сильное возбуждение (иммунизация resp. болезнь), надолго сохраняет воспоминание о своей реакции на него и в дальнейшем легче и быстрее отвечает на него аналогичным образом“. Опыт иммунизации подтверждает нам это: проиммунизированная лошадь может уже значительно утратить свой антитоксин, о чем мы узнаем пробой взятой от нее сыворотки; однако она без труда переносит дальнейшую инъекцию значительной дозы токсина,—у нее сохранена ее значительная общая приобретенная реактивность, и она быстро отвечает новой выработкой антитоксина. Результат реакции у неболевших мы толкуем в том смысле, что отрицательная реакция на строго выверенный токсин показывает, за весьма редким исключением, солидный иммунитет, положительная—восприимчивость вообще, у одних, возможно, абсолютную (поскольку можно говорить о таковой), у других—относительную, в зависимости от массивности дозы инфекта, значение которой, безусловно, велико.

Отобрав, как нам кажется, горючий для эпидемии материал, мы начали его иммунизировать, и будущее нам уже здесь в Казани покажет, насколько мы правы в интерпретации р. Dick'a, основываясь на ней при иммунизации, ибо, конечно, лучшая проверка ее есть проверка эпидемиологическая, и предстоящая эпидемия лучше всего ответит на этот вопрос.

ЛИТЕРАТУРА.

- 1) G. F. Dick and G. H. Dick. Journ. of Amer. Med. Ass., t. 83, № 2; t. 84, № 11; ib., № 20.—2) A. Zingher. Ibid., t. 83, № 6.—3) P. S. Rosen and Korobicina. Ib., 84, № 20.—4) W. H. Park. Ib., t. 85, № 16.—5) Ch. Zoeller et Manoussakis. C. r. Soc. Biol., t. 92, p. 1046; t. 93, p. 24.—6) H. Sparrow. Ib., t. 94, № 14.—7) Труды IX с'езда Бактериологов в Москве, 1926.—8) Проф. Е. М. Лецкий, д-р Н. Н. Благовещенский и д-р В. М. Федоров. Каз. Мед. Журн., 1925 г., № 1.—9) Микробиологический Журнал, 1925, т. 1, статьи П. П. Маслаковца, М. Г. Данилевича и сотрудников.