

120  
11

## Къ методикъ дифференціального распознаванія дифтеріальныхъ бациллъ.

Проф. Е. Шендлерскію.

Для отличія дифтеріальныхъ бациллъ отъ ложнодифтеріальныхъ въ практикѣ возбуду пользуются способомъ этихъ микроорганизмовъ давать т. е. возрванъ тѣлу, или зерна Babes-Ernst's, въ различное время послѣ всѣхъ изъ на кровяную сморочку Löffler'a. Въ то время, какъ дифтеріальный бацилла образуются ихъ уже черезъ 9—20 часовъ при температурѣ 36°, въ ложнодифтеріальной культурѣ оны начинаютъ значительно позже или даже вовсе не появляются. Эта особенность размножаемыхъ бациллъ воспользовавшись съ цѣлю дифференцірованія ихъ уже давно Neisser'oim, который предложилъ особый способъ окраски зерна Babes-Ernst'a, заключающійся въ томъ, что зерна не только окрашиваются сначала метановой смѣской въ растворъ съ уксусной кислотой, а потомъ возмущают<sup>1)</sup>. Вслѣдствіе того же авторъ предложилъ для этой цѣли еще и другую окраску, представляющую собою нѣкоторое видоизмѣненіе зеренъ (примѣненіе къ зерну раствора протавинъ-пикриата и раствора нитрата хромового<sup>2)</sup>. Для той же цѣли можно служить и способъ Ficker'oim въ которомъ уксусная кислота метановой смѣской замѣнена азотной кислотой<sup>3)</sup>.

Этими способами обыкновенно имѣютъ обнаруженіе возрваныхъ тѣлъ изъ дифтеріальныхъ бациллъ, если они въ нихъ, такъ какъ, зерна<sup>4)</sup>. Такъ какъ эти способы окраски замѣняютъ

1) M. Neisser. Zeitschrift für Hygiene. N 24, 1897.

2) M. Neisser. Hyg. Vorträge 1902.

3) Ficker. Hyg. Vorträge 1892.

4) Упомянуто это выраженіе какъ наиболее соответствующее процессу образованія возрваныхъ тѣлъ. По имени, употребляемому

всего избыточно минут времени, то естественно, что они были в особенности употреблены во всех лабораториях, поименованных выше только и основывается дифференциальный диагноз этих бактерий.

Во подавляющем числе случаев результаты этого диагноза оказываются верными. Но встречаются иногда сомнительные случаи, которые могут вестн к неправильным подразделениям. Бывают случаи, когда сь одной стороны дифтерийная бактерия казывается по виду образовывать полирные тяжи или даже вовсе их не давать. Таковыми бывают не только лабораторные культуры, долгое время перенасыщенны на глицериновом агаре, но и откозы выделенныя. М. Beck встрѣтил дифтерийными бациллами вовсе неказывающн зерны Babes-Kraus<sup>1)</sup>. Kurth<sup>2)</sup> и Reichenbach<sup>3)</sup> также изобразили дифтерийная бактерия сь отками свойствами. Сь другой стороны и псевдодифтерийная бактерия дают иногда рано, въ теченн одних суток в мѣтѣ, полирные образования, по которым их можно принять за истинныя дифтерийныя. Такой случай представился и мнѣ въ настоящее году при изслѣдованн здоровыхъ воспитанницъ мѣстной женской гимназш по поводу одного случая дифтерш, возникшаго среди нихъ. Выделенная бактерия по первоначальному микроскопическому изслѣдованню, микроскопическому росту на глицериновомъ агарѣ и крайней сноровости приращенна сь псевдодифтерийную, дала въ теченн 20—22 часовъ роста ясныя полирные тяжи послѣ исцалывающъ перебѣгомъ на средѣ Löffler'a и такимъ образомъ въ откосѣ по Neisser'y не отличалась болѣе отъ истинно-дифтерийной, выделенной въ то же время изъ тѣмъ болѣея дифтеритомъ воспитанницъ.

еще изслѣдованннмъ валь В. пробовъ при образованн полирныхъ тяжей въ действительности дѣло идетъ о процесѣ, въ которомъ можно различать два периода. Въ первомъ — на концѣ вѣточки происходятъ свлзаны какаго то вещества или модификацш протоплазмы, которое болѣе широкимъ по сравнению даже и снлными красками, мѣстъ фуксанъ и гезиданъ-золотъ. Вездѣмъ этого въ мѣстѣ будучи тяжи при откосѣ обнаруживаются вустоты сь рѣдко обозначенными границами. Во второмъ періодѣ образуется свлзана малой в оловн болѣея вѣточки зерно, представляющее влзную снорку тронговидна жеса.

- 1) M. Beck. Diphtheria. Handb. d. path. Mikroskop. von Koll. und Wassermann.
- 2) Kurth. Zeitschr. f. Hyg. B. XXVII.
- 3) Reichenbach. Zeitschr. f. Klin. Med. B. XXXVIII.

Такъ какъ по первоначальному изслѣдованню гортанной слани воспитанницъ, у которой оказалась эта бактерия, во бѣдъ признавъ зараженною и не была отдалена отъ здоровыхъ, то, въ случаѣ ошибки въ диагнозѣ, инфекция могла получить возможность дальнѣйшаго распространѣнн.

Признаки истинно-дифтерийныхъ бактерий за ложнодифтерийныя можно очевидно также вестн въ неограниченномъ мнропрнннмъ, а въ результатѣ предпринятн распространѣнн болѣзни не будетъ достигнуто.

Во виду основаннныя наметки иногда необходимою пользуются и друими свойствами расконтрируемнхъ бактерий для обозначенн вѣрнаго диагноза. И тогда скорее возможно это сделать, тѣмъ для практическаго требованн лучче.

Извѣстно, что ростъ дифтерийнаго бацилла и псевдодифтерийныхъ на питательныхъ средяхъ обыкновенно представляетъ лишь контрастную разницъ, а вѣточи ихъ на твердыхъ средяхъ по своему виду отлнчивъ почти невозможно. На глицериновомъ агарѣ и на сноровкѣ Löffler'a & Rosenb. diff. растеть истинно и при болѣе низкой температурѣ. Истнныя указываютъ на то, что при этомъ эта болѣзнь даетъ желтоватый налетъ (Beck); друпе, напротивъ, свлзываютъ, что у псевдодифтерийныхъ бактерий налетъ почти бланый жѣтый (Escherich<sup>1)</sup>). Я замѣтилъ, что выделенная въ гортн ложнодифтерийная бацилла иногда растеть на крайней сноровкѣ въ видѣ бланого налета и иногда рѣдко отлнчивающъ отъ истиннаго дифтерийнаго бацилла, а иногда жѣтый налетъ бываетъ такъ же желтоватымъ, какъ и при этомъ изслѣдуемъ. Впрочемъ, это зависитъ отъ разннцнмнхъ свойствъ бацилла.

Во бурномъ ростѣ истинно-дифтерийнаго бацилла характеризуется образованнмъ крупинокъ, осаждающихся на дно и стѣнки пробирки. Псевдодифтерийная бацилла даетъ при ростѣ въ бурной разннцнруую мути (Zarinko<sup>2)</sup> и др.), во Prochaska<sup>3)</sup> находилъ и въ мути бурннмнхъ культурахъ ложнодифтерийныхъ бактерий зерны. По этому мѣстою этотъ процессъ не настолько истинно существуетъ, чтобы имъ пользованы для дифференціальнаго расконтрннн.

- 1) M. Beck l. cit.
- 2) Escherich. Artologie und Pathogenese der epid. Diphtherie. I. 1891. Wien.
- 3) Zarinko. Centralbl. f. Bact. Bd. 6. 1890.
- 4) A. Prochaska. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 24. 1897.

По микроскопическому виду эти бактерии представляют таких несомненно различия, что оба отличия их друг от друга не могут быть в явном.

Также мало имеет значения для дифференциального распознавания и испытание вирулентности этих бактерий, хотя некоторые авторы этому способу распознавания и отводят видное место. Хотя локоидиферийные бактерии в большинстве при инъекции их морским свинкам, и во многих случаях дают такую несомненно опухоль на месте инъекции, но в некоторых диферийных бактерий могут оказаться таковыми, если потеряют свою вирулентность. Поэтому и опыты над животными не являются для, а если и являются, то неваро так как для выяснения его результатов всегда нужно ждать несколько дней.

Есть одно, во всем данных, весьма постоянное свойство диферийных бактерий, которым можно воспользоваться для отличия их от локоидиферийных. Это — способность их образовывать при росте на питательных средах, в особенности одородных виноградный сахар, довольно значительное количество кислоты (уже в первые 24 часа. Roux и Jersin<sup>1)</sup> уже давно отметили это свойство диферийных бактерий. Во время их интенсивного образования кислоты идет сыпье. При продолжительном росте этих бактерий восстанавливается снова молочная реакция, но у локоидиферийных бактерий, по их мнению, это восстановление происходит быстрее<sup>2)</sup>. Показателю, в последствии замедления является какая то кислотность. Мадсен<sup>3)</sup> исследовавший различные культуры истинно-диферийных бактерий отличает два типа: во первых, тип, образующий кислоту с первых дней роста на бульоне, при чем через несколько дней образовывается количество кислоты достаточное до выливания и далее не уменьшается; во вторых, тип „молочный“, также образующий с первых дней кислоту, но количество ее с 5 дней (на среднем) постепенно убывает. Признавая за диферийными бактериями эту кислотообразовательную способность Мадсен сомневается в том, чтобы Srouck, противоречиво название которого он приводит, являл

действительно, как он говорит, культуру истинно-диферийной бактерии, так как она с первых же дней роста не дала кислоты. На основании диферийных бактериями кислоты назывался Zaitnik<sup>4)</sup>, который из опыта назвал видный фундаментальное различие между этими бактериями и локоидиферийными, не обнаруженными, по его мнению, кислоты. Такого же мнения придерживается и Prochaska<sup>5)</sup>, который указывает кроме того еще на одно очень важное обстоятельство, а именно, что локоидиферийные бактерии в 3—4 дня роста даже усиливают кислотность среды, между тем как локоидиферийные истинно-диферийные бактерии с первых дней роста вырабатывают кислоту, и только лишь через неделю и даже дольше в культурах возникает молочная реакция.

M. Neisser<sup>6)</sup>, предельно своей дифференциальной способностью, говорит, что „образование диферийными бактериями кислоты есть явной постоянной признак этих бактерий“. Ему принадлежат лишь один раз бактерии, появившийся на диферийной, который продуцировал кислоту в той же степени, как и истинно-диферийные бактерии. Вообще же по его наблюдениям локоидиферийные бактерии если и образуют кислоту, то очень мало.

Мы видели выше исследование Куарр<sup>7)</sup>, удостоверяющая, что прибавление к обычной смеси различных видов сахара (декстрин, инулин, мальтоза и доксираза) и в некотором количестве лактозы в виде настойки дает возможность различать образующимся виде микроорганизмов, так как *S. difteriae* реагирует прибавлением сахара с образованием кислоты, вследствие чего окисляется. При росте на такой среде *S. pseudodifteriae* образование кислоты не происходит, и она остается сухой.

Во последнее время Thiel<sup>8)</sup>, испитывая рост различных культур того и другого вида на среде Баранкова с прибавлением виноградного сахара, вывел следующие заключения: *S. difteriae* образует при этих условиях большее количество кислоты уже в течение 24 часов при 37°, вследствие чего среда краснеет; все бактерии, появившиеся на диферийную на виноградном, на молочном сахаре не реагируют с скольконибудь значитель-

1) Roux et Jersin. Annales de l'Institut Pasteur 1888.

2) Roux et Jersin. 1884. 1888.

3) Th. Madsen. Zeitschrift für Hygiene. XXVI. 1897.

4) Zaitnik. I. cit. p. 228.

1) Prochaska. Zeitschrift für Hygiene. Bd. 24. 1892. стр. 286.

2) M. Neisser. I. cit. стр. 452.

3) Kuarr. Centralbl. f. Bact. Ref. Bd. 26. N. 12/13.

4) Dr. Thiel. Hyg. Rundschau. Bd. XVII. 1897. № 21.

наше образование кислоты. Различие между теми и другими рбами, и потому Thiel предлагал среду Баранкова с виноградным сахаром, в качестве дифференциально-диагностического средства для этих бактерий.

Этим предложением воспользовался Schürrius и результаты его исследований проводит Dr. Thiel (в с.). Schürrius исследовал 14 различных культур актинодифтерерийных бактерий в 9 актинодифтерерийных на их отношение к среде Баранкова с виноградным сахаром. В результате оказалось, что все дифтерерийные культуры в течение 24 часов производили сквашивание среды; актинодифтерерийные бациллы и керевинь бациллы или вовсе не изменяли первоначальной цвета ее, или они иногда переходили в слабо — красный.

Таким образом можно прийти, что образование бактериями дифтерерий значительного количества кислоты в особенности в средах, содержащих виноградный сахар, есть явление возможное, отличающее их от актинодифтерерийных бацилл. Поэтому предложены заманки Sudeck's<sup>1)</sup>, который указывает на то, что употребляются актинодифтерерийные бациллы, образующие кислоту, и Peters's<sup>2)</sup> приемом, что реакция на образование кислоты теми и другими видами не настолько значительно, чтобы ею можно было пользоваться с диагностической целью, особенно или в редких исключениях, или основываясь на недоразумении.

Наша цель — тому выводу, при помощи исследования, горючей среды у воспитанных учебных заведений, и сделать попытку использовать различимую особенность дифтерерийных бацилл с диагностическую целью и применять для этого методу, описанную мной хорошо получив как тогда, так и теперь.

Исходя из того соображения, что кислотобразовательная способность дифтерерийных бацилл будет проявляться лучше всего на такой среде, на которой эти бактерии растут скорее и пышнее, и для дифференциации их от актинодифтерерийных, образуя кислоту среду Löffler's (5 частей сыроутра + 1 часть бульона с 1%-ным содержанием виноградного сахара). Для обнаружения же образования кислоты я прибавил к ней некоторое количество желтого ферула, обесцвечивающего при помощи

кислого натрия. Обесцвечивающий ферула при росте дифтерерийных бактерий сейчас же приобретает свою красную окраску, тогда как актинодифтерерийные культуры не изменяют цвета среды.

На практике лучше всего поступать следующим образом: Двух-процентный желтый ферула в колбочке доводится до кипения и в это время к нему прибавляется по каплям раствор желтого ферула до тех пор, пока красный цвет почти не перейдет в бурый, или бурый с небольшим примесью красного цвета. Желтого ферула кислого натрия в растворе не должно быть. После этого раствор фильтруется, еще раз кипятится и прибавляется к каждой еще Löffler'sкой сыроутре в количестве 4—5 капель на 10 кубов сыроутры. С желтым сыроутром смешивается в пробирках в каком положении не obtains применяется. Полученная среда по своему цвету почти не отличается от обыкновенной сыроутры Löffler's. Нисколько также не страдает пригодность ее для роста как дифтерерийных, так и актинодифтерерийных бактерий. Мне всегда казалось, что они растут на этой среде, но смотря на практике ферула, даже весьма дурная, так как той же среде была нет.

После бактерий, нагр, которых надо установить, производится инкубация по поверхности воды застывшей среды, после чего застывшие пробирки ставятся в термостат при 36—37° Ц.

Уже через 12—14 часов в пробирках с желтым желтым дифтерерийных бактерий начинают образовываться красный цвет желтого ферула сначала внизу, а потом и по всему протяжении стержня. Через 24 часа получается широкая красная полоса, на которой в средине выделяется субстанция бактерийной массы.

В пробирках с актинодифтерерийных бактериями не изменяется ни в это время, ни после указанного положения в цвет среды.

Виднее окрашивание среды в красный цвет наступает совершенно резко и отчетливо.

В настоящее время при совершенно других обстоятельствах и в другом месте (в г. Вюртем) мне снова представлялась необходимость обратиться к своему способу дифференциации в случае, касающемся очень сомнительных, вследствие того что, так сказать внешне, выделенные бациллы давали положительный результат при окраске по Neisser'sy но смотря на то, что они, по внешнему виду актинодифтерерийные. После на среду с желтым ферулом и на этот раз различить различие было сомнительно.

1) Sudeck. Festschrift zu Peter das 80-jährig. Stiftungsfestes des Inst. Vossius zu Hamburg 1896. 2) Peters. Deutsche medizinische Wochenschrift. 1897.

Въ виду всего этого я и полагаю, что мой способ дифференцировки дифтерийныхъ бактерий можетъ имѣть свое значение въ соответствующихъ случаяхъ какъ, по крайней мѣрѣ, подспорье дальнейшему испытанію. Сравнительно со способомъ Thiel's, онъ, какъ думается, имѣетъ нѣкоторое преимущество, такъ какъ на средѣ Löffler'a эти бактерии растутъ лучше и скорее, чѣмъ на средѣ другихъ средъ, и следовательно образованіе кислоты при этомъ можетъ быть подобно всегда равное.

## Ein Beitrag zur Differentialdiagnose der Diphtheriebazillen.

Von

Prof. E. Schepilewsky.

Die in den Laboratorien angewandte Methode zur Erkennung der Diphtheriebazillen durch die Spezialfärbung nach Neisser der Kerne Babes-Ernst, welche bei den echten Diphtheriebazillen nach 9—20 Stunden, und bei den Pseudo-Diphtheriebazillen bedeutend später erscheinen, geben nicht immer zuverlässige Resultate, da man auf der einen Seite Diphtheriebazillen trifft, welche diese Kerne sehr spät oder überhaupt keine bilden, hingegen auf der anderen Seite, wovon auch bei den falschen Diphtheriebazillen, erscheinen diese Kerne wieder gefügig früh.

Andero Eigenheiten dieser Bakterien, wie ihr verschiedenartiges Wachstum auf den Nährböden, so auch die Virulenz, können ihrer Verlässlichkeit wegen, als Erkennungsmittel nicht dienen.

Eine an meisten befähigte, oder sogar, nach einigen Autoren, thomas beständiges Erkennungszeichen der Diphtheriebazillen, ist ihre Fähigkeit auf traubenzuckerhaltigen Nährböden, eine grosse Menge Säure zu produzieren.

Die Pseudo-Diphtheriebazillen hingegen, wie aus vielfachen Untersuchungen hervorgeht, produzieren überhaupt keine Säure, oder nur in sehr minimalen Mengen.

Dieses Kennzeichen der Differentialdiagnose der genannten Bakterien benutzte ich schon vor 5—6 Jahren in St. Petersburg bei einer Massenuntersuchung des Rachenschleimes von Zöglingen der Lehranstalten und arbeitete dann eine entsprechende Untersuchungsmethode aus. Angeblichlich in Dorpat, bei ähnlichen Verhältnissen, wie ich gezwungen, bei einem zweifelhafte Falle, diese, meine angegebenen Methode, anzuwenden und mit gleichem Erfolge.