
КЪ БАКТЕРІОЛОГІИ КУМЫСА.

ДИССЕРТАЦІЯ
НА СТЕПЕНЬ ДОКТОРА МЕДИЦИНЫ
ДМИТРІЯ ШИПИНА.

Изъ лабораторіи при Академической терапевтической клиникѣ проф.
С. С. Боткина.

Цензорами диссертациі, по порученію Конференціи, были профессора: С. С.
Боткинъ, Н. Я. Чистовичъ и приватъ-доцентъ Н. Н. Кириковъ.

С.-ПЕТЕРБУРГЪ.

Типографія кн. В. П. Мещерякова. Спасская, № 27.

1899.

3-р

Докторскую диссертацию лекаря Дмитрія Павловича Шинина под заглавіемъ: «Къ бактериологіи кумыса» печататьъ разрѣшается, съ тѣмъ, чтобы по отпечатаніи было представлено въ Конференцію ИМПЕРАТОРСКОЙ Военно-Медицинской Академіи 500 экземпляровъ диссертаций (125 экземпляровъ диссертаций и 300 отдѣльныхъ оттисковъ краткаго резюме (выводовъ)—въ Конференцію и 375 экземпляровъ—въ академическую бібліотеку).

С.-Петербургъ, 27 Сентября 1899 года.

Ученый Секретарь, Ординарный Профессоръ А. Діанни.

Введеніе. Въ настоящее время установлено, что образованіе бродящихъ напитковъ совершается при посредствѣ жизнедѣятельности опредѣленныхъ микроорганизмовъ. Мы различаемъ спиртовое, молочно-кислое, уксусно-кислое, масляно-кислое броженіе и др. Каждое изъ нихъ вызывается опредѣленными микроорганизмами, а спиртовое, рядомъ различныхъ видовъ, между которыми выдающуюся роль играютъ дрожжевые грибки. Въ числѣ напитковъ, менѣе изученныхъ, находится кумысъ, который является продуктомъ спиртоваго и молочно-кислаго броженія кобыляго молока. Изъ трехъ видовъ микроорганизмовъ, живущихъ въ немъ—*saccharomycetes*, *b. acidi lactici* и такъ называемой кумысной палочки, послѣдняя до сихъ поръ оставалась мало обследованной, и роль ея въ образованіи кумыса была лишь гадательная. Это происходило главнымъ образомъ отъ того, что ее не могли до послѣдняго времени культивировать.

Многоуважаемый профессоръ Сергій Сергѣевичъ Боткинъ, предлагая мнѣ заняться изученіемъ кумысной палочки, рекомендовалъ воспользоваться съ этою цѣлью методами анаэробіоза, такъ какъ, по его мнѣнію, неполученіе авторами чистой культуры этой палочки могло произойти вслѣдствіе того, что они пользовались почти исключительно методами разводки при доступѣ кислорода воздуха. Дѣйствительно, примѣнивъ способы, употребля-

ющиеся для выращивания анаэробных бактерий, мнѣ скоро удалось получить чистыя культуры кумысной палочки. Я сначала сдѣлаю историческій обзоръ работъ по бактериологii кумыса, а потомъ уже перейду къ изложенію своей работы.

Исторія этого предмета не велика. Вотъ въ хронологическомъ порядкѣ, перечень авторовъ, которые въ большей или меньшей степени касались этого вопроса: Dr. Landowski ¹⁾, Cochin ²⁾, Биль ³⁾, Сорокинъ ⁴⁾, Григорьевъ ⁵⁾, Штанге ⁶⁾, Голубовъ ⁷⁾ и Шеръ ⁸⁾. Dr. Landowski, изслѣдуя кумысъ подъ микроскопомъ, находилъ въ немъ клѣтки *Saccharomyces* и короткія палочки молочно-кислаго броженія (*des articles courts de ferment. lactique*). Cochin находилъ въ кумысѣ также *Saccharomyces* и ферментъ, по видимому, въ формѣ той палочки, которая въ настоящее время извѣстна подъ именемъ кумысной (*un ferment en bâtonnet*). Cochin считаетъ эту палочку аналогичной молочно-кислому ферменту и способной превращать молочный сахаръ въ кислоту. Всѣ дальнѣйшія изслѣдованія кумыса въ бактериологическомъ отношеніи принадлежатъ русскимъ авторамъ.

¹⁾ Landowski.—Du Kummis et de son rôle en thérapie. Journal de thérapie, 1874. Цит. по Голубову. Н. О. Голубовъ. Клиническія и бактериологическія изслѣдованія надъ кумысомъ. Москва 1890 г.

²⁾ Duclaux. Chimie biologique (Encyclopedie chimique), t. IX, 1.—resection, p. 681. Цит. по Голубову.

³⁾ Биль. Кумысъ и обильнѣ веществъ во время леченія кумысомъ. СПб. 1881, стр. 25.

⁴⁾ Проф. Н. В. Сорокинъ. Дневникъ Казанскаго Общ. Врачей. 1883 г. № 5 стр. 75.

⁵⁾ Д-ръ А. В. Григорьевъ. О микроорганизмахъ кумыса. Русская Медицина 1885. № 16 и 17.

⁶⁾ Д-ръ Штанге. Леченіе кумысомъ и кофиромъ. СПб. 1886.

⁷⁾ I. с. стр. 119 и слѣд.

⁸⁾ М. Б. Шеръ. Три случая леченія кумысомъ въ Шабо. Медицина. 1890. № 10, 11 и 12.

Биль на стр. 25 своего труда ¹⁾ говоритъ, что въ кумысѣ, при увеличеніи въ 500 разъ, кромѣ множества молочныхъ шариковъ, видны еще продолговатыя узкія палочки, усѣченныя съ обоихъ концовъ, никогда не развѣтвляющіяся и сильно преломляющія свѣтъ. По его мнѣнію, эти палочки ничѣмъ не отличаются отъ обыкновеннаго фермента молочной кислоты. Въ заключеніе Биль говоритъ, что ему ни разу не удалось видѣть въ кумысѣ дрожжевыхъ грибовъ.

Въ 1882 году проф. Н. В. Сорокинъ сдѣлалъ сообщеніе въ Казанскомъ Обществѣ Врачей о ферментѣ кумыса. Докладчикъ нашелъ въ кумысѣ только 2 микроорганизма: *saccharomyces* и длинныя бациллы. Последнія, по его наблюденіямъ, обладаютъ произвольными и притомъ весьма энергичными движеніями, не имѣютъ споръ и рѣзко отличаются отъ бацилл молочной кислоты (палочки *Nippe*). На стр. 78 своего доклада ²⁾ авторъ говоритъ: «Въ заключеніе я долженъ еще прибавить, что палочковидныя бактеріи, которыя наблюдались мною въ кумысѣ, совершенно не походятъ на микроорганизмы, производящіе молочное броженіе».

Далѣе слѣдуетъ специальная о микроорганизмахъ кумыса работа Григорьева, появившаяся въ «Русской Медицинѣ» за 1885 г. Авторъ, не ограничиваясь, какъ перечисленные выше, однимъ микроскопическимъ изслѣдованіемъ кумыса, пытался получить культуры находящихся въ немъ микроорганизмовъ. Онъ считаетъ принадлежностью кумыса, 4 вида организмовъ: «длинныя палочки-бациллы, весьма короткія палочки-бактеріи, кокки и дрожжевые грибки». Узнавая легко въ описываемыхъ Григорьевымъ весьма короткихъ палочкахъ бактеріи молочно-

¹⁾ I. с.

²⁾ I. с.

кислаго броженія, въ коккахъ—тѣхъ кокковъ, которые, по современному ученію, въ кумысѣ могутъ быть и не быть и представляютъ собою случайную примѣсь, и оставляя въ сторонѣ дрожжевые грибки, которые авторъ точно опредѣляетъ, я считаю необходимымъ коснуться нѣсколько подробнѣе длинныхъ палочекъ—бациллъ. На стр. 311¹⁾ авторъ пишетъ: «Бациллы кумыса представляются въ видѣ довольно тонкихъ нѣжныхъ нитей, имѣющихъ совершенно цилиндрическую форму, закругленные концы и одинаковую повсюду свѣтопреломляемость». Далѣе: «Одна изъ колоній вызывала *силное разжиженіе*²⁾ желатины и состояла изъ бациллъ; разжиженіе это, при зараженіи желатины уколомъ, быстро распространялось вглубь.... на 3-й день отъ начала посѣва вся желатина превращалась уже въ мутноватую жидкую массу, среди которой были взвѣшаны въ незначительномъ количествѣ хлопья сѣровато-бѣлаго цвѣта»....

Достаточно одного уже признака изучавшейся Григорьевымъ палочки, именно, что она весьма энергично разжижаетъ желатину, чтобы не считать ее за кумысную, такъ какъ кумысная палочка желатины не разжижаетъ, въ чемъ легко можно убѣдиться, не прибѣгая даже къ чистымъ культурамъ палочки, а прямо дѣлая посѣвъ кумыса на желатинѣ. Очевидно авторъ имѣлъ дѣло съ загрязненіемъ. Онъ самъ считаетъ эту палочку за *Clostridium butyricum*, которая, по совершенно вѣрному замѣчанію доктора Голубова³⁾, вовсе не должна присутствовать въ кумысѣ, такъ какъ тогда кумысъ могъ бы сдѣлаться совершенно негоднымъ къ употребленію вслѣдствіе маслянокислаго броженія.

¹⁾ I. c.

²⁾ курсивъ мой.

³⁾ Стр. 118. I. c.

Въ 1886 году появилась новая работа по этому предмету. Именно, докторъ Штанге въ своей книгѣ «Леченіе кумысомъ и кефиромъ» отвелъ видное мѣсто микроорганизмамъ кумыса, описавъ каждый въ отдѣльности довольно подробно. Д-ръ Штанге установилъ съ большою категоричностью¹⁾, чѣмъ другіе авторы, какъ необходимую принадлежность кумыса, три микроорганизма: 1) молочно-кислую бактерію, вырабатывающую молочную кислоту, 2) *Saccharomyces*, вырабатывающіе спиртъ и углекислоту и 3) бациллы кумыса, на долю которыхъ авторъ отводитъ пентонизацію бѣлка.

Оставляя пока въ сторонѣ молочно-кислую бактерію и *saccharomyces*, я сдѣлаю нѣсколько выдержекъ изъ описанія авторомъ кумысной палочки. На стр. 29 своего труда онъ говоритъ: «Третій микроорганизмъ кумыса почти не изученъ еще; онъ долженъ играть въ химическихъ процессахъ кумыса важную роль уже по своему громадному количеству; кумысные палочки находятся въ постоянномъ движеніи, встрѣчаются какъ въ самыхъ слабыхъ, такъ и въ самыхъ крѣпкихъ сортахъ кумыса; въ послѣднихъ ихъ какъ будто еще больше». Сдѣлавъ морфологическое описаніе палочки, признаваемой имъ за кумысную, авторъ далѣе говоритъ о спорахъ, которыя по его мнѣнію, весьма часто можно наблюдать въ бациллахъ, особенно въ крѣпкихъ сортахъ кумыса. Затѣмъ онъ ссылается на работу доктора Григорьева, который далъ подробное описаніе споръ и условій ихъ образованія, что, какъ мы уже видѣли, не можетъ быть отнесено къ истиннымъ кумыснымъ палочкамъ.

Въ 1890 году появилась книга д-ра Голубова «Клиническія и бактериологическія изслѣдованія надъ кумы-

¹⁾ Стр. 31. I. c.

сомъ», въ которой авторъ посвящаетъ микроорганизмамъ кумыса цѣлый отдѣлъ.

Д-ръ Голубовъ началъ дѣлать микроскопическія наблюденія надъ кумысомъ еще съ 1886 г. и продолжалъ ихъ до конца 1889 г., когда приступилъ къ изученію микроорганизмовъ кумыса путемъ получения чистыхъ культуръ. находящихся въ немъ микробовъ. Первые три года матерьяломъ ему служилъ бутылочный кумысъ, затѣмъ одно лѣто кумысъ, приготовлявшійся въ сабахъ (въ большихъ кожаныхъ мѣшкахъ) ¹⁾ и, наконецъ, во время лабораторныхъ занятій, кумысъ, приготовлявшійся имъ самимъ въ лабораторіи. Между прочимъ автору въ 1889 году удалось найти, что микроорганизмы кумыса, также какъ и микроорганизмы кефира, образуютъ зерна. Зерна эти осѣдаютъ на стѣнкахъ сабъ, послѣ того какъ въ нихъ наступило и продержалось нѣкоторое время правильное кумысное броженіе. При микроскопическомъ изслѣдованіи зерна эти оказываются состоящими сплошь изъ массы палочекъ и клѣтокъ *Saccharomyces*. Авторъ пользовался этими зернами для первоначальной закваски кумыса, приготовлявшагося въ лабораторіи.

Многочисленныя микроскопическія наблюденія непосредственно надъ кумысомъ, сдѣланныя д-мъ Голубовымъ, даютъ основаніе считать его окончательно установившимъ флору кумыса, которая, какъ о томъ уже высказался вполне опредѣленно д-ръ Нтанге, состоитъ изъ 3 видовъ микроорганизмовъ: 1) *Saccharomyces*, 2) палочки молочнокислаго броженія (*B. acidi lactici* Pasteur-Hüppe) и 3) кумысной палочки (которая въ биологическомъ отношеніи, по Голубову, есть лишь вегетативная форма предыдущей). Другія же бактеріи и грибки какъ *Sarcina alba*, *B. sub-*

¹⁾ Въ кумысн. заводеніи Курина.

tilis, *Clostridium butyricum*, *Penicillium*, *Oidium lactis*, являются лишь случайными и представляютъ собою разрозненіе.

Не смотря на массу сдѣланныхъ авторомъ поѣздовъ на пластинкахъ, на агарѣ и желатинѣ, а равно и послѣ примѣненія жидкихъ средъ, ему не удалось получить культуръ кумысныхъ палочекъ. Тогда авторъ перешелъ къ непосредственному микроскопическому наблюденію надъ развитіемъ этого микроорганизма, прививая кумысъ чертою въ питательныя среды на предметномъ стеклѣ. Примѣнялась простая и сахарная желатина. Результаты этихъ наблюденій были таковы, что давали автору «право впервые *заподозрѣть, что длинныя бациллы кумыса и B. acidi lactici* Pasteur-Hüppe суть различныя вегетативныя формы одного и того же микроорганизма, а не два разные ¹⁾».

Дальнѣйшіе опыты въ сахарномъ бульонѣ и стерилизованномъ кобыльемъ молокѣ подтвердили это предположеніе и дали автору возможность высказаться уже болѣе положительно, «что въ кумысѣ *имѣются только два микроорганизма: Saccharomyces и бактерія молочнокислаго броженія* ²⁾», при чемъ послѣдняя имѣетъ одну изъ вегетативныхъ формъ въ видѣ длинныхъ бациллъ». Далѣе, Голубовъ пришелъ къ заключенію, что пентонианія бѣлковъ можетъ происходить въ кумысѣ лишь благодаря *совмѣстной* дѣятельности *saccharomyces* и *b. acidi lactici*. Также должно считать важнымъ выводъ, сдѣланный авторомъ, что развитіе микроорганизмовъ кумыснаго броженія пренятствуетъ размноженію въ кумысѣ сапрофитныхъ бактерій, попадающихъ въ него изъ воздуха ³⁾.

¹⁾ и ²⁾ курсивъ автора.

³⁾ Авторъ дѣлалъ такой опытъ: одні колбы съ нестерилизованнымъ кобыльимъ молокомъ приводилъ съ помощью закваски въ кумысное броженіе, а

Подвижности палочекъ и образования въ нихъ споръ Голубовъ не наблюдалъ.

Въ томъ же году появилась въ «Медициѣ» статья М. В. Шера: «Три сезона леченія кумысомъ въ Шабо». Въ ней авторъ высказывается въ пользу возможности превращенія палочки молочно-кислаго броженія въ кумысную. Всѣ авторы, изучавшіе бактериологію кумыса, за исключеніемъ Голубова, сохраняли посѣвы изъ него при доступѣ воздуха и слѣдовательно не дѣлали попытокъ полученія изъ кумыса анаэробныхъ бактерий; Голубовъ, единственный, дѣлавшій такія попытки, только вскользь упоминаетъ о нихъ, не указывая подробно примѣненныхъ методовъ. Въ своей работѣ: «О кумысѣ и леченіи имъ (1899 г.)»¹⁾ онъ говоритъ слѣдующее (стр. 48):

«Лѣтъ пять назадъ я произвелъ изслѣдованіе кумыса и на присутствіе анаэробныхъ микробовъ: таковыхъ въ немъ не оказалось».

Заканчивая исторической обзоръ литературы по бактериологіи кумыса, я долженъ замѣтить, что сдѣлавъ его кратко, имѣя въ виду къ нѣкоторымъ, болѣе важнымъ, изъ перечисленныхъ работъ вернуться еще не разъ по тому или другому поводу.

Перехожу теперь къ изложенію своей работы.

Первой моей задачей было рѣшить вопросъ, дѣйствительно ли я имѣю дѣло съ анаэробомъ. Съ этою цѣлью я воспользовался простѣйшимъ способомъ—Либоріуса, или культивированіемъ въ высокихъ слояхъ плотныхъ средъ. Какъ питательную среду я примѣнилъ случайно

другія итѣ. Тѣ и другія ставились въ термостатъ при 27°. Черезъ нѣсколько дней первыя давали при микроскопическомъ изслѣдованіи обычную флору кумыса, а вторыя представляли явленія гнистатаго разложенія съ массою пенокъ, стрептококковъ в. тепло и пр.

¹⁾ Проф. Н. О. Голубовъ. О кумысѣ и леченіи имъ. 2-е изд. Москва 1899 г.

имѣвшуюся у меня простую желатину¹⁾. Быль сдѣланъ посѣвъ кумыса уколомъ и въ видѣ смѣси съ разжиженою желатиною. Пробырки были поставлены затѣмъ при комнатной температурѣ. Дней черезъ 10 какъ по уколу, такъ и въ смѣси, получились довольно пышное разрастаніе разныхъ колоній, какъ на поверхности желатины, такъ и въ глубинѣ. Между ними выдавалось нѣсколько колоній, особыхъ по своему виду. Онѣ походили какъ бы на паукотъ, сидящихъ въ центрѣ паутины, представляя собою небольшой комочекъ бѣлаго цвѣта, отъ котораго по всѣмъ направленіямъ расходились того же цвѣта тонкіе, нитевидные отростки. Подъ микроскопомъ эти колоніи оказались состоящими изъ длинныхъ палочекъ, напоминающихъ кумысныя. Открывъ путемъ анаэробіоза неописанный еще видъ колоній изъ посѣвовъ кумыса, состоящихъ, по видимому, изъ кумысныхъ палочекъ, мнѣ не трудно уже было получить чистыя культуры этой палочки, одна изъ которыхъ изображена на приложенномъ рисункѣ (см. табл. рис. 2). Еще въ исторической части было упомянуто, что въ кумысѣ находятся 3 вида микроорганизмовъ: *saccharomycetes*, *b. ac. lactici* и кумысная палочка. Получая въ цѣломъ рядѣ случаевъ, послѣ прививокъ кумыса, только что описанныя колоніи, сохранявшія при пересѣвѣ свою форму и состоявшія изъ длинныхъ палочекъ, среди колоній бактерий молочно-кислаго броженія и дрожжевыхъ грибовъ, я заключаю, что *кумысная палочка есть самостоятельный микроорганизмъ*,

¹⁾ Подъ сокращенными терминами желатина и агаръ подразумеваются мясная бульонъ съ пептономъ и NaCl, какъ это указано во всѣхъ руководствахъ по бактериологіи, съ добавленіемъ того или иного количества желатини или агаръ-агара. Во всѣхъ болѣе важныхъ случаяхъ будетъ указывъ % желатини или агара, а также въ своемъ мѣстѣ будетъ описано приготовленіе всѣхъ питательныхъ средъ.

распознаваемый весьма легко по характернымъ его колоніямъ, въ особенности на желатинѣ.

Кумысная палочка истинный, но не вполне строгій анаэробъ. Я долженъ здѣсь нѣсколько коснуться терминологіи, которой опредѣляются различные виды бактерий по отношенію ихъ къ свободному кислороду. Съ одной стороны это необходимо потому, что само понятіе анаэробіоза не всѣми одинаково принимается и это можетъ дать поводъ причислить извѣстный видъ микробовъ не къ тому разряду, а съ другой стороны, въ изучаемой мною кумысной палочкѣ до такой степени преобладаютъ анаэробныя свойства, что вопросъ, къ какому разряду анаэробовъ она должна быть отнесена, можно рѣшить лишь послѣ нѣкоторыхъ доводовъ. Френкель ¹⁾ называетъ анаэробами такіе виды, которые не только не могутъ расти въ присутствіи свободнаго кислорода, но этотъ послѣдній на нихъ оказываетъ даже губительное дѣйствіе. Гюппе ²⁾ говоритъ: «О другихъ видахъ было высказано, что отсутствіе кислорода воздуха необходимо для ихъ жизни и дѣятельности, и что кислородомъ воздуха они убиваются: это безусловные анаэробы». Въ другомъ мѣстѣ: «Занимавшіеся до сихъ поръ анаэробіозомъ химики, Pasteur, Fitz, Duclaux, Nencky и Hoppe Seyler обращали вниманіе исключительно на динамическую сторону вопроса и упустили изъ виду, что мы имѣемъ дѣло съ ферментнымъ организмомъ, съ протоплазмой, которая при принаравливаніи можетъ дать множество возможностей принаравленія, при чемъ одно изъ нихъ будетъ принаравленіе къ кислороду. На эту филогенетическую сторону вопроса я обращалъ съ 1884 года все больше и больше

вниманія и считаю ее столь же важнымъ факторомъ, какъ и динамическую сторону». Д-ръ Кедровскій ¹⁾, занимавшійся вопросомъ, при какихъ условіяхъ могутъ расти анаэробныя бактерии и при доступѣ воздуха, пришелъ къ заключенію, что 1) анаэробныя бактерии отлично растутъ при обыкновенныхъ условіяхъ при доступѣ кислорода воздуха въ смѣшанныхъ колоніяхъ— вмѣстѣ съ аэробами. 2) сущность этого явленія состоитъ въ томъ, что аэробныя бактерии при ихъ размноженіи выделяютъ особую субстанцію, на счетъ которой и происходитъ ростъ анаэробовъ и 3) этому способствуютъ и нѣкоторыя другія условія, между которыми имѣетъ не малое значеніе качество питательной среды, напр. содержаніе въ ней сахара. Вежеринск различаетъ два разряда истинныхъ анаэробовъ. Первый разрядъ можетъ поглощать послѣдніе слѣды свободнаго кислорода изъ питательной среды, при чемъ получается морфологически столь характерная «кислородная форма». Второй разрядъ требуетъ абсолютнаго отсутствія свободнаго кислорода для своего произрастанія ²⁾.

Günther ³⁾ въ своемъ руководствѣ къ бактериологиче говоритъ: «Совершенно различно относятся бактерии къ свободному кислороду. Многіе виды растутъ только при постоянномъ безпрепятственномъ доступѣ кислорода (*строгіе аэробы*), у другихъ, напротивъ, въ присутствіи малѣйшихъ слѣдовъ кислорода развитіе тотъ-часъ же останавливается (*строгіе анаэробы*), третій отдѣлъ занимаетъ среднее положеніе (*факультативные анаэробы*)». Въ томъ смыслѣ, какъ это приведено у Гюппе, а также въ томъ, какъ изложено у Кедровскаго, Günther нигдѣ не выска-

¹⁾ Френкель. Основы ученія о бактеріяхъ. Перев. съ нѣм. 1887 г.

²⁾ Гюппе. Способы бакт. изслѣд. Перев. съ нѣм. изд. Спб. 1893 ст. 375 и 377.

¹⁾ Dr. W. Kedrowsky. Ueber die Bedingungen, unter welchen anaerobe Bacterien auch bei Gegenwart von Sauerstoff existiren können. Zeitschrift für Hygiene 1895 Bd. XX p. 358.

²⁾ Bejerinck. Centr. f. Bakt. 2 Abth. Bd. I. 1895 p. 109. Цит. по Günther'у.

³⁾ Günther. Einführung in das Studium der Bakteriologie 5 Aufl. 1898 s. 26.

зывается, а наоборот случаются иногда как бы рост анаэробов (напр. палочка столбняка) на поверхности агара считается просто явлением пассивного выдвигания материала из глубины вновь там растущим материалом. («Ich halte diese Erscheinung für den Ausdruck einer passiven Verdrängung des in der Tiefe entwickelten Materials nach oben hin: es wird von dem neu nachwachsenden Materiale fortgeschoben»)¹).

Большинство полученных мною вначале чистых культур кумысной палочки, привитой уколом на желатинѣ, подходит под описание роста строго анаэробных бактерий: на самой поверхности роста не замѣтно; начиная от поверхности и в глубину до 1 сант. рост крайне скудный, слѣдующіе $\frac{1}{2}$ —1 сант. слабый или умѣренный, а в глубинѣ, начиная съ $1\frac{1}{2}$ —2 сант. от поверхности и до самого дна пробирки, роскошный. Если прибавить къ этому, что попытки, какъ прежнихъ авторовъ, такъ и мои, получить колоніи при доступѣ свободнаго кислорода, давали постоянно отрицательные результаты, то являлись на лицо всѣ данныя, чтобы отнести эту палочку къ разряду строгихъ анаэробовъ. Но культуры в видѣ смѣси, въ которыхъ колоніи, хотя и въ рѣзко ослабленномъ видѣ, подходили очень близко къ поверхности, а затѣмъ и нѣсколько уколовъ, давшихъ болѣе или менѣе удовлетворительный ростъ въ верхнихъ слояхъ, побудили меня, въ связи съ желаніемъ имѣть колоніи палочекъ на поверхности для изученія ихъ строенія подъ микроскопомъ, — дѣлать все новыя и новыя попытки получить кумысныя колоніи при доступѣ свободнаго кислорода. Результатомъ этихъ попытокъ было полученіе въ двухъ случаяхъ на поверхности косої желатины и косога агара²) спустя

2—3 недѣли послѣ прививки чертой колоній кумысной палочки¹). На желатинѣ почти вдоль всей черты, а на агарѣ лишь въ одномъ мѣстѣ появилась едва замѣтная муть, которая лишь подъ микроскопомъ, при увеличеніи въ 115 разъ (Leitz Об. 3. Ок. 3) оказалась состоящей изъ множества мелкихъ колоній, по общему впечатлѣнію, буроватыхъ, а при ближайшемъ разсмотрѣніи крапчатыхъ: на бѣломъ фонѣ мелкія, буроватая точки. Форма ихъ чрезвычайно различна, отъ круглой и полулунной до весьма причудливой съ многочисленными отростками. Подлинность этихъ колоній съ кумысными была подтверждена микроскопическимъ изслѣдованіемъ и контрольной прививкой (уколомъ) на желатинѣ, при чемъ въ первомъ случаѣ палочки оказались въ общемъ короче обыкновенной длины, а во второмъ колоніи, хотя и характерныя, развивались слабо и медленно. Параллельно съ этими опытами я ставилъ подобныя же прививки на косохъ средахъ въ условія анаэробіа, на примѣръ, наливая въ пробирки послѣ посѣва стерилизованное оливковое масло; при этомъ получался пышный ростъ вдоль всей черты, за исключеніемъ самыхъ верхнихъ слоевъ масла, гдѣ ростъ былъ слабѣе, переходя въ самомъ верху въ простую муть, состоящую изъ замѣтныхъ даже простымъ глазомъ, отдѣльныхъ пятнышекъ. Наливая также стерилизованное масло на желатину и агаръ въ пробиркахъ съ посѣвомъ чистой культуры палочекъ уколомъ. И въ этихъ случаяхъ можно было совершенно легко констатировать не только прекрасный ростъ въ самыхъ верхнихъ слояхъ питательной среды, но и весьма замѣтное распространеніе роста по поверхности ея²).

¹) Все время для прививокъ я призывалъ чистую культуру, отъ времени до времени получая свѣжую посѣву кумысы на питательныя среды.

²) Опыты съ добавленіемъ красящихъ веществъ—лакусовой настойки и метиленовой синьки ничего опредѣленнаго не дали (См. Гюнне I. с. стр. 250—257).

¹) Gunther I. с. p. 217.

²) Желатина простая, а агаръ сахарный (1⁰/о).

Взвѣсивая все только что сказанное о кумысной палочкѣ, можно придти къ заключенію что свободный кислородъ оказываетъ на нее вредное вліяніе и она при обычныхъ условіяхъ въ присутствіи кислорода не можетъ развиваться. Только систематически пріучая эту палочку къ кислороду, въ единичныхъ случаяхъ удается получить слабое развитіе ея при доступѣ воздуха. Ростъ этого микроорганизма въ такихъ случаяхъ вполне подходитъ подъ тотъ, который Гюппе называетъ приравливаніемъ анаэробовъ къ кислороду, и поэтому могъ бы быть отнесенъ къ строгимъ анаэробамъ, тѣмъ болѣе, что полученныя мною (и то лишь въ очень ограниченномъ числѣ случаевъ) колоніи палочки при свободномъ доступѣ кислорода имѣли столь слабо развитую видъ, что во всякомъ случаѣ носили ясныя слѣды задерживающихъ ростъ вліяній. Но принимая во вниманіе, что въ пробиркахъ ростъ появлялся не только въ глубокихъ, а и въ болѣе или менѣе поверхностныхъ слояхъ питательной среды, которые содержатъ небольшія количества кислорода, мнѣ кажется наиболѣе правильнымъ отнести кумысную палочку къ разряду не вполне строгихъ, хотя и истинныхъ, анаэробовъ ¹⁾.

О вліяніи различныхъ газовъ на кумысную палочку. Къ предыдущей главѣ совершенно естественно примыкаютъ тѣ данныя, которыя я получилъ изъ опытовъ надъ ростомъ колоній кумысной палочки въ различныхъ атмосферахъ. Я изслѣдовалъ вліяніе слѣдующихъ атмосферъ (кромѣ обыкновенной): CO_2 , H_2 и обыкновеннаго воздуха, лишеннаго кислорода. Для опытовъ съ двумя первыми газами я пользовался аппаратами, для культивирования анаэробныхъ бактерий, Воткина ²⁾ и Блю-

¹⁾ Или истинныхъ анаэробовъ первого разряда Beijerinck'a.

²⁾ Dr. S. Botkin. Eine einfache Methode zur Jsolirung anaërober Bakterien. Zeitschr. für Hygiene. 1890 Bd. IX S. 383.

хера ¹⁾, а для развитія самихъ газовъ аппаратомъ Киппа ²⁾. Не смотря на то, что ростъ кумысной палочки въ атмосферѣ CO_2 казался вполне естественнымъ, такъ какъ кумысь содержитъ большія количества этого газа, мнѣ не удалось получить колоній палочки въ чистой CO_2 , не смотря на многократныя попытки и разнообразныя среды, примѣненныя при этомъ. Въ атмосферѣ H_2 я получилъ при обыкновенной ³⁾ на агарѣ въ 2-хъ случаяхъ (всего было сдѣлано больше 10 посѣвовъ въ разное время на желатинѣ и агарѣ) довольно многочисленныя колоніи въ видѣ рыхлыхъ, бѣловатыхъ, различной формы и слегка возвышенныхъ пятенъ. При увеличеніи въ 115 разъ, колоніи эти казались зернистыми и слегка крапчатыми. въ дѣйствиіе присутствія въ нихъ какъ бы буроватаго пигмента. На микроскопическомъ препаратѣ были констатированы палочки, вполне аналогичныя кумыснымъ, но лишь нѣсколько короче, тѣмъ обыкновенныя ³⁾. Часть опытовъ была произведена при обыкновенной температурѣ, а часть при 37°C . Что касается до воздуха, лишеннаго кислорода, то опытъ дѣлался такимъ образомъ: послѣ того какъ посѣвъ былъ сдѣланъ въ питательную среду (въ пробирку съ бульономъ, желатиной и агаромъ, въ послѣднее уколомъ или чертой на косой поверхности), зараженныя обыкновенныя пробирки (открытыя) заключались въ пробирки большихъ размѣровъ, въ каждую изъ которыхъ, предварительнo насыпался 1 грам. pyrogallol'a, а затѣмъ

¹⁾ H. Blücher. Eine Methode zur Plattencultur anaërober Bacterien. Ibid. Bd. VIII. S. 499.

²⁾ CO_2 получалась дѣйствиіемъ HCl на мраморъ, а H_2 дѣйствиіемъ $\text{H}_2 \text{SO}_4$ на зернистый диокъ. (H пропускался черезъ 2 Вульфова стекла: 1 съ растворомъ Li_2O , а другая съ раств. NaHO).

³⁾ Во всѣхъ случаяхъ, гдѣ нужно было подтвердить подлинность кумысной палочки, я прибѣгалъ къ контрольнымъ прививкамъ на желатинѣ, (сухоломъ или въ видѣ смѣси).

вливалось 10 к. ц. 10% калийного щелока. После этого пробирки немедленно обвязывались простерилизованной фильтровальной бумагой и обмазывались расплавленным парафином. Во всех случаях рост палочки оказался более или менее хорошим.

Влияние температуры. Известно, что сапрофиты в общем растут лучше при более низких температурах, чем паразиты. Для первых температурный optimum колеблется около 20° С, тогда как для вторых около температуры тела. Точно также выведено, что большинство вегетативных форм бактерий в общем предпочитают от неподходящего действия температуры в 55°—60° С¹⁾. Что касается кумысной палочки, то мои наблюдения привели меня к выводу, что наиболее благоприятная температура для ее роста колеблется между 20° и 30° С, и с некоторой оговоркой могу принять ее температурный optimum более определенно, именно около 25° С. Эта оговорка необходима потому, что в тех пределах, когда можно работать с желатиной, выводы сделаны более определенно, именно, в том смысле, что по мере повышения температуры, улучшается и рост палочки. Что же касается до высших температур, когда работа возможна лишь на агаре (или по крайней мере, в смеси агара с желатиной), то результаты получались настолько неопределенные и даже нередко противоречивые, что пришлось здесь сделать выводы лишь по общему впечатлению²⁾. Во всяком случае при 37° С рост палочки совершается еще удовлетворительно. В общем, следует здесь заметить, что при комнатной t° вполне ясные колонии обнаруживались на желатине на 4-й и 5-й день.

¹⁾ Günther, стр. 27 и 29.

²⁾ Так как палочка на агаре растет слабо.

Для определения maximum'альных и minimum'альных температур, которые палочка может выдерживать, делались такие опыты: пробирки с агаром, в которых только что был сделан посев (уколом) чистой культуры палочек, ставились в водяную баню, доведенную до определенного числа градусов, и продерживались в ней 10, 15, 20 и 30 минут. Оказалось, что действие температуры в 57° С в течение 1/2 часа или в 60° в течение даже 10 минут было уже губительным для палочки, тогда как после получасового пребывания при 55° палочка провзросла. Замечу здесь, кстати, что гибель палочки при такой низкой t°, как 57°, говорить против существования у нее спор, что будет размытно ниже.

Для изучения влияния низких температур несколько пробирок, с посевом в них уколом на желатине чистой культуры, поставлено было в погреб, где t° колебалась в пределах между 0° и 5° С; здесь они находились в течение 2 недель. Роста в них замечено не было, но лишь только они были поставлены в условия обыкновенной (комнатной) температуры, как констатировано было прорастание культуры в обыкновенной форме.

Рост на питательных средах. В основу всех питательных сред был положен бульон, который готовился так, как это указано во всех руководствах по бактериологии. Количество ингредиентов было таково, что на один литр воды шло 500 грамм мяса, 10 гр. пептона и 5 грамм хлористого натрия. Точно также *lege artis* были приготовлены из бульона и другие питательные среды, с последовательной стерилизацией в Коховском аппарате или автоклаве, смотря по случаю. Что касается реакции сред, то в начале применялась

исключительно нейтральная, затѣмъ ясно щелочная и ясно кислая. Степень щелочности и кислотности опредѣлялась съ помощью лакмусовой бумаги моментомъ исчезанія амфотерной реакціи, слѣдовательно, она была слабая. Были приготовлены слѣдующія среды: 1) нейтральная: а) бульонъ простой, б) желатина (10%) простая, в) агаръ (1—1½ %) простой и г) агаръ сахарный (½—1%); 2) слабо щелочная: а) бульонъ обыкновенный, б) бульонъ сахарный (½ %); в) желатина простая (10%), г) желатина сахарная (сах. ½ %), д) агаръ простой (1%), е) агаръ сахарный (сах. ½ %), ж) агаръ глицериновый (5%) и 3) слабо кислая такая же, какъ и щелочная. Кромѣ того были испробованы: а) щелочная желатина съ 1% молочнаго сахара, б) коровье молоко, в) кобылье молоко и г) кровяная сыворотка.

Наблюденія надъ вліяніемъ питательныхъ средъ на ростъ кумысной палочки привели меня къ слѣдующимъ выводамъ. На кислыхъ средахъ палочка растетъ значительно лучше, чѣмъ на нейтральныхъ, а тѣмъ болѣе щелочныхъ, что, впрочемъ, и слѣдовало ожидать, имѣя дѣло съ бродильнымъ грибомъ²⁾. Сахаръ, въ особенности молочный (въ указанныхъ выше количествахъ), способствуетъ росту палочки. О плохомъ ростѣ на агарѣ и роскошномъ на желатинѣ было уже сказано раньше. Съ бульономъ и молокомъ дѣло сложнѣе въ виду того, что здѣсь примѣшивается вліяніе новаго фактора, именно, доступъ свободнаго кислорода. Благодаря послѣднему обстоятельству ростъ въ этихъ средахъ, при обыкновенныхъ условияхъ, очень слабый, вѣрнѣе, даже сомнительный. Нѣсколько иные результаты получаются, если примѣненъ герметической запоръ сосуда или обыкновенная атмосфера лишена

кислорода, или замѣнена индифферентнымъ газомъ. Но и тутъ ростъ все таки слабый.

Что же касается характера колоній, то на желатинѣ, какъ это было раньше описано, онѣ бѣлаго цвѣта и состоятъ вначалѣ изъ небольшого центральнаго тѣла (въ видѣ комочка), изъ котораго по вѣзмъ направленіямъ идутъ довольно прямые отростки въ видѣ нитей¹⁾, затѣмъ центральное тѣло увеличивается въ объемѣ быстрѣе, чѣмъ отростки, благодаря чему вначалѣ колонія похожа на паука, сидящаго въ центрѣ паутины, а потомъ на кучечекъ моха. По уколу эти колоніи нагромождаются одна на другую или безпрерывно, или же отдѣляются иногда другъ отъ друга узрочатой оболочкой (дѣльно слабѣе развитыхъ колоній). Продолжительность жизнеспособности колоній нѣсколько мѣсяцевъ. На агарѣ колоніи гораздо меньче и имѣютъ меньше отростковъ, а по уколу растутъ въ видѣ кружевнаго узора, напоминающаго нѣсколько ростъ на агарѣ палочки tetanus^a. На кровяной сывороткѣ ростъ умѣренный, въ видѣ узора по уколу. Бульонъ остается прозрачнымъ и, въ случаѣ роста палочки, на днѣ можно констатировать небольшой хлопьеобразный осадокъ. Молоко коровье при обыкновенной t° оставалось безъ измѣненія, за исключеніемъ появленія незначительнаго бѣловатаго песочнаго осадка на днѣ, въ которомъ было найдено умѣренное содержаніе палочекъ: 0, 1, 2—6 въ полѣ зрѣнія (при увелич. въ 1000 разъ). А прямо въ молокѣ палочекъ очень мало. Поставленное же при 37° молоко свернулось, спустя приблизительно 2 недѣли, но не вполнѣ (въ видѣ густой кашицы) и безъ замѣтнаго образованія сыворотки. На днѣ небольшой бѣловатый песочный осадокъ, какъ и въ предыдущемъ случаѣ. Палочекъ въ этихъ

¹⁾ Сахаръ виноградный.

²⁾ Гюше, 1. с. стр. 240, 243.

¹⁾ Въ болѣе старыхъ колоніяхъ отростки часто древовидны.

пробирках оказалось несколько больше, чемъ въ предъидущихъ, главнымъ образомъ на днѣ пробирокъ, въ осадкѣ. Пробирка съ кобыльимъ молокомъ, съ ватной пробкой, оставленная безъ взбалтыванія послѣ посѣва чистой культуры палочки, измѣненной никакии не имѣла.

Образованіе газовъ. Развиваясь въ питательныхъ средахъ палочки вызываютъ образованіе газовъ. Въ культурахъ на желатинѣ и кровяной сывороткѣ это развитіе газовъ легко можетъ быть констатировано по образованію полостей. Газы, изслѣдованные въ культурахъ на молокѣ, оказались состоящими изъ CO_2 ¹⁾. Изслѣдованіе на H_2S дало отрицательные результаты ²⁾.

Кумьсная палочка и ея колоніи при микроскопическомъ изслѣдованіи. Все что говорилось до сихъ поръ о палочкѣ, могло быть опредѣлено, почти во всѣхъ случаяхъ, макроскопически. Теперь я перейду къ тѣмъ даннымъ, которыя могутъ быть получены лишь съ помощью микроскопа. Сначала я скажу о болѣе тонкомъ строеніи колоній. Освободивъ желатину изъ пробирки легкимъ нагрѣваніемъ, я вырѣзывалъ съ помощью покрывательнаго стеклышка кружечки желатины или же прямо съ помощью платиновой петли захватывалъ кружочки, содержащія одну или нѣсколько колоній, которые затѣмъ и помѣщалъ на предметное стекло. При увеличеніи въ 115 р. (Leitz об. 3 ок. 3), можно было видѣть, что колонія состоитъ изъ буроватаго слегка зернистаго центрального тѣла болѣе или менѣе рѣзко ограниченнаго, круглой, овальной или неправильной формы, съ многочисленными отростками болѣе свѣтлаго цвѣта, состоящими изъ нитей, то тянущихся почти безпрерывно, то раздѣ-

ляющихся на небольшіе участки, соответствующіе отдѣльнымъ индивидуумамъ. Нѣкоторые отростки прямы, другіе волнисты; иногда концы ихъ имѣютъ явную штопорообразную изогнутость, съ разщепленіемъ на концѣ на отдѣльныя нити. Нерѣдко около конца отростка лежитъ нѣсколько свободныхъ палочекъ въ различномъ положеніи. При болѣе внимательномъ разсмотрѣніи буроватый цвѣтъ тѣла и отростковъ не сплошной, а крапчатый. При увеличеніи въ 600 разъ (Leitz об. 7 ок. 3) центральное тѣло представляется состоящимъ изъ переплета множества палочекъ въ видѣ сѣти или войлока; пигментаціи почти не замѣтно, и свободно лежащихъ палочекъ около отростковъ больше. Теперь уже можно замѣтить, что пигментация колоній есть явленіе лишь оптическое, дающее на мѣстѣ перекреста или большаго скопленія палочекъ иное преломленіе лучей свѣта, такъ какъ въ отдѣльныхъ палочкахъ пигментныхъ зернышекъ не замѣтно даже при увеличеніи въ 1000 разъ; въ самой же колоніи не замѣтно присутствія какого либо другаго вещества, кромѣ палочки. Что же касается до отдѣльныхъ палочекъ, лежащихъ свободно и даже въ нѣкоторомъ разстояніи отъ тѣла колоніи или его отростковъ, то ихъ можно отнести и на счетъ поврежденія колоній, которое легко происходитъ при приготовленіи препаратовъ, въ особенности, для болѣе сильнаго увеличенія, когда приходится кусочекъ желатины (значительной толщины) даже придавливать покрывательнымъ стеклышкомъ, чтобы явилась возможность правильно установить объективъ микроскопа. Теперь перейду къ описанію палочки.

Виль ¹⁾ описываетъ кумьсныя палочки, какъ прямая, узкія, усѣченныя съ обонхъ концовъ, никогда не развѣтвляющіяся и сильно преломляющія свѣтъ. Проф. Соро-

¹⁾ См. ниже.

²⁾ H_2S опред. съ помощью бумажки, напитанной въ щелочномъ растворѣ уксуснокислаго свинца.

кинь ¹⁾ говорить так о кумысной палочкѣ: «Но когда токи исчезли, грибки ²⁾ осѣли на дно капли, то къ крайнему своему удивленію, Вы замѣчаете, что между бродильнымъ ферментомъ быстро мчатся цѣлые десятки палочковидныхъ бактерий (Фиг. 3, в.). Благодаря своей незначительной величинѣ и, главное, безцвѣтности оболочки, онѣ могутъ быть видими только при извѣстномъ косвенномъ освѣщеніи препарата зеркаломъ микроскопа... Движеніе бактеріевъ самое разнообразное: то они вращаются на одномъ мѣстѣ, то убѣгаютъ изъ поля зрѣнія, то, наконецъ, останавливаются и вздрагиваютъ, покачиваясь своими концами изъ стороны въ сторону. Какой нибудь рѣснички у нихъ я до сихъ поръ не могъ замѣтить». Д-ръ Штанге ³⁾, замѣтившій также существованіе движеній у кумысной палочки, такъ ее описываетъ: «Морфологически этотъ третій микроорганизмъ представляется въ видѣ палочки разной длины и довольно постоянной ширины; длина ея колеблется отъ 8 до 20 μ , ширина около 1 μ , концы этой палочки нѣсколько закруглены, такъ что по общему виду эта палочка напоминаетъ бациллы брюшнаго тифа, отъ которыхъ отличается между прочимъ тѣмъ, что весьма легко окрашивается. Палочки кумыса всегда членисты, въ болѣе длинныхъ экземплярахъ можно видѣть переходныя формы отъ простой перетяжки до полного раздѣленія; въ послѣднемъ случаѣ палочки располагаются въ линію одна за другой. Весьма часто, въ особенности въ крѣпкихъ сортахъ кумыса, можно замѣтить въ бациллахъ споры въ видѣ крупныхъ блестящихъ тѣлъ, не окрашивающихся двойной окраской ни по Грамму, ни по Коху-Эрлиху. Споры занимаютъ весь поперечникъ палочки (1 μ)

¹⁾ Дневн. Общ. Каз. Вр. I. с. стр. 76.

²⁾ Saccharomyces.

³⁾ Д-ръ Штанге, I. с. стр. 29.

и располагаются или на одномъ концѣ или въ серединѣ палочки». Голубовъ ¹⁾, касаясь кумысной палочки, говорить: «Далѣе мы находимъ огромное количество палочекъ—бацилл. По моимъ наблюденіямъ въ любомъ препаратѣ въ нѣкоторыхъ мѣстахъ на $\frac{1}{100}$ квад. миллим. можно насчитать до сотни такихъ палочекъ. Ширина палочекъ различна: въ одномъ и томъ же препаратѣ, въ одномъ и томъ же полѣ зрѣнія одиѣ толще, другія тоньше; въ среднемъ кумысѣ онѣ въ общемъ толще, какъ бы упитаннѣе, въ старомъ кумысѣ тоньше. Предѣлы, въ которыхъ обыкновенно колеблется ширина палочекъ, 0,3—1 μ . Длина палочекъ очень различна; средняя длина отдѣльной палочки отъ 10 μ до 15 μ , но есть палочки очень короткія (около 2 μ —3 μ) и очень длинныя. Палочки, обыкновенно въ такомъ случаѣ короткія, образуютъ цѣпочки; часто видны цѣлыя зооглеи, образованныя параллельно расположенными рядами такихъ цѣпочекъ. Длина такихъ цѣпочекъ достигаетъ до 50 μ и болѣе. Сорокинъ и Штанге утверждали, что палочки кумыса обладаютъ самопроизвольнымъ движеніемъ. Я никогда, ни въ какомъ кумысѣ не видѣлъ произвольнаго движенія; вѣроятно, названные авторы приняли за таковое броуновское движеніе». Нѣсколько далѣе авторъ говоритъ: «Мнѣ, не смотря на многія попытки, ни разу не удалось получить въ кумысныхъ палочкахъ споръ помощью двойной окраски; получаются въ палочкахъ иногда мѣста, не воспринимающія вовсе окраски, могущія ввести въ заблужденіе и быть принятыми за споры».

И такъ, въ описаніи кумысной палочки у разныхъ авторовъ есть много общаго, но есть и несходство. Разницу мы находимъ относительно существованія у палочекъ произвольнаго движенія и споръ.

Сопоставляя наблюденія авторовъ и свои собственныя,

¹⁾ I. с. стр. 122, 123 (1890).

я долженъ описать кумысную палочку слѣдующимъ образомъ: она пряма, съ слегка закругленными концами, сильно преломляетъ свѣтъ, споръ не имѣетъ, самопроизвольнымъ движеніемъ, повидимому, не обладаетъ, длина ея очень разнообразна, начиная отъ 2 μ и до 20 μ (и даже болѣе), въ среднемъ однако въ 10—15 μ . Споръ не видно и при двойной окраскѣ (карболовымъ фуксинномъ и воднымъ растворомъ метиленовой синьки). У авторовъ же, наблюдавшихъ споры, имѣются противорѣчія и указанія въ ихъ собственныхъ работахъ, которыя говорятъ объ ошибочности ихъ заключеній. Такъ д-ръ Григорьевъ ¹⁾ говоритъ въ одномъ мѣстѣ, что бактерии кумыса имѣютъ одинаковую повсюду свѣтопреломляемость, а въ другомъ, правда оговариваясь, что это явленіе происходитъ лишь въ чистыхъ разводкахъ, онъ описываетъ въ палочкахъ образованіе споръ, а равно и окраску ихъ, по способу Balmer-Frentzel'a. Но уже Голубовымъ доказано, что д-ръ Григорьевъ въ чистыхъ культурахъ имѣлъ другую бактерію ²⁾, которую онъ ошибочно и считалъ за кумысную. Далѣе, д-ръ Штанге говорить, что онъ наблюдалъ споры не въ окрашенномъ состояніи, и ему не удавалось ихъ окрасить ни по Грамму, ни по Коху-Эрлиху. Кромѣ того, въ ученіи о спорахъ онъ сильно опирается на работу д-ра Григорьева; слѣдовательно и его данныя о спорахъ мало доказательны. На стр. 19 уже сказано, что умираніе палочки при невысокой ³⁾ говоритъ также противъ существованія споръ. Итакъ, слѣдуетъ признать, что кумысная палочка размножается посредствомъ дѣленія. На препаратахъ можно нерѣдко видѣть цѣлые ряды болѣе короткихъ палочекъ, расположенныхъ совершенно по одной линіи и появившихся очевидно послѣ раздѣленія болѣе длинныхъ индивидуумовъ на части. Что же

касается до наблюдавшагося движенія палочки, то его приходится отнести отчасти на счетъ броуновскаго движенія, а отчасти на счетъ движенія, вызываемаго отдѣленіемъ мельчайшихъ пузырьковъ углекислага газа; этого послѣдняго движенія я еще коснусь въ другомъ мѣстѣ, когда буду говорить о броженіи кумыса.

Окраска. Были испробованы слѣдующія краски по отношенію къ кумысной палочкѣ: метиленовая синька въ видѣ спиртно-воднаго раствора, а также щелочнаго раствора Леффлера, карболовый фуксинъ (растворъ Циля), Генціана-Віолетъ, Метилъ-Віолетъ (спиртно-водный растворъ). Отъ всѣхъ перечисленныхъ красокъ получается быстрое и очень хорошее окрашивание. Сафранинъ (1⁰/₀) даетъ умѣренную окраску, а эозинъ (спиртно-водный 1⁰/₀ растворъ) и Bismarckbraun слабую. Палочка окрашивается по методу Gram'a.

Мѣсто нахождения кумысной палочки. Представляетъ большой интересъ вопросъ, является ли кумысъ единственной средой, въ которой живетъ или вообще находится кумысная палочка, или же она встрѣчается въ водѣ, молокѣ, воздухѣ и, въ особенности, въ другихъ бродящихъ напиткахъ, какъ напр., квасѣ, кефирѣ, пивѣ и пр., въ которыхъ имѣются весьма благоприятныя условія для жизни палочки: сахаръ, кислая среда, а также часто и условія анаэробіоза. Относительно воды, и воздуха вообще, можно сказать съ увѣренностью, что палочка въ нихъ при обыкновенныхъ условіяхъ не встрѣчается. Вода и воздухъ такъ уже много разъ изслѣдовались на содержаніе въ нихъ бактерій, и кумысная палочка имѣетъ столь характерный и бросающійся въ глаза ростъ на желатинѣ, что во всякомъ случаѣ она была-бы уже извѣстна, если бы тамъ часто встрѣчалась. Что же касается того, что иногда наблюдалось самопроизвольное, похуже

¹⁾ l. c. стр. 311.

²⁾ Clostridium butyricum.

на кумысное, брожение кобыльего молока, выставленного прямо на воздухъ, то во первыхъ оно могло зависѣть отъ попадания туда *saccharomyces* и *b. acilactici*, которыя часто присутствуютъ въ воздухѣ, и въ этомъ молокѣ могло не содержаться вовсе кумысныхъ палочекъ (такъ какъ авторы не указываютъ при этомъ на безукоризненность кумыснаго брожения, а также не приводятъ бактериологическаго изслѣдованія такого кумыса), а съ другой стороны кумысная палочка могла попасть въ молоко случайно изъ воздуха, въ особенности если принять во вниманіе, что подобное броженіе наблюдалось именно въ тѣхъ мѣстахъ, гдѣ существуетъ производство кумыса, и гдѣ, слѣдовательно легко палочки могутъ попасть и въ воздухъ (изъ высохшихъ капель пролившагося на землю кумыса). Изслѣдованіе воздуха на присутствіе въ немъ кумысныхъ палочекъ въ мѣстахъ, гдѣ готовится много кумыса (степяхъ, кумысныхъ заведеніяхъ) могло бы лучше уяснить этотъ вопросъ. Изслѣдованія молока, сдѣланныя неоднократно, не привели къ открытію кумысной палочки. Изъ 322-хъ видовъ микроорганизмовъ приведенныхъ у Серковского¹⁾, ни одинъ не подходитъ вполне по признакамъ къ кумысной палочкѣ.

Менѣе изслѣдованные въ этомъ отношеніи бродячіе напитки, квасъ и кефиръ, также не содержатъ кумысныхъ палочекъ. О квасѣ есть работа д-ра Упенскаго: «Къ бактериологій кваса», 1891 г. Задавшись, главнымъ образомъ, цѣлью опредѣлить, не представляетъ ли квасъ среду, удобную для развитія патогонныхъ бактерий, авторъ пришелъ къ выводу, что кромѣ огромнаго количества дрожжевыхъ грибовъ, въ квасу живутъ пять наичаще встрѣчающихся видовъ бактерий,

¹⁾ С. Серковский. Пособіе для распознаванія микробовъ. Харьковъ. 1893 г.

которыя онъ называетъ поименно: *bac. subtilis*, *bac. mycoides*, *sarcina lutea*, *bac. parvus* — *ovatus* Löffler'a, и *b. mesentericus fuscus*. Малѣйшее предположеніе о тождествѣ котораго либо изъ перечисленныхъ видовъ съ кумысной палочкой опровергается ужъ тѣмъ, что всѣ они или хорошо растутъ при доступѣ кислорода или же разжижаютъ желатину.

Д-ръ Эсауловъ¹⁾, изслѣдуя кефиръ въ бактериологическомъ отношеніи, нашелъ обычною принадлежностью кефира *b. ac. lactici*, *saccharomyces* и *bac. subtilis*.

Что же касается пива и вообще напитковъ съ алкогольнымъ броженіемъ²⁾, то я также не нашелъ намека на присутствіе, гдѣ-либо кумысной или похожей на нее палочки.

Провѣрка флоры кумыса. Сдѣланныя мною микроскопическія наблюденія непосредственно надъ кумысомъ, а также разводки изъ него на питательныхъ средахъ, привели меня къ тѣмъ же выводамъ, къ которымъ пришли и авторы, работавшіе раньше по этому вопросу т. е., что необходимую принадлежность кумыса составляютъ 3 вида бактерий: 1) *saccharomyces*, 2) *b. acidi lactici* и 3) кумысная палочка. Кромѣ нихъ, при микроскопическомъ изслѣдованіи препаратовъ, приготовленныхъ непосредственно изъ кумыса, я встрѣчалъ только очень мелкіе кокки, располагавшіеся въ одиночку и въ видѣ диплококковъ. Присутствіе ихъ въ кумысѣ не постоянно и въ виду этого должно считаться случайнымъ загрязненіемъ. Что же касается другихъ микроорганизмовъ, какъ напр. *sarcina*, *oidium lactis*, плесени и пр., то они встрѣчались только

¹⁾ Эсауловъ, Н. Кефиръ. Бактеріологическое и химическое изслѣдованіе. Дис. Москва, 1895 г.

²⁾ См. объ этомъ у Jørgensen'a. Die Mikroorganismen der Gährungsindustrie. 4 Aufl. 1898 г.

при посъвахъ кумыса на питательныхъ средахъ, изрѣдка въ видѣ единичныхъ колоній, а поэтому и отношу ихъ къ случайнымъ загрязненіямъ, попадавшимъ изъ воздуха во время работы, а не происшедшимъ непосредственно изъ кумыса.

Этимъ я заканчиваю отдѣлъ чисто бактериологическій и переходжу къ изученію той роли, которую играетъ кумысная палочка въ броженіи кумыса.

Кумысное броженіе. Если мы сравнимъ составъ кобыльего молока и кумыса, то легко можемъ увидѣть разницу того и другого, а слѣдовательно, и сущность кумыснаго броженія. Я привожу здѣсь составъ кобыльего молока и кумыса по среднимъ цифрамъ анализовъ разныхъ авторовъ (Штанге, Виль, Дохманъ, Потѣхинъ, Орловъ, Мозеръ и Сокслетъ, Фить)¹⁾. Кумысъ взятъ вездѣ трехдневный.

НА 100 ЧАСТЕЙ.	Кобылье молоко.	Кумысъ.
Всего бѣлковыхъ веществъ .	2,358	2,292
Казеина	1,906	1,230
Альбумина	0,380	0,375
Парапептона	—	0,350
Гемияльбумозы (пропептона). .	—	0,422

¹⁾ Орловъ, В. Д. Къ вопросу о снѣ стениомъ кумысѣ и о методѣ анализа кумыса. Казань, 1890 г.

НА 100 ЧАСТЕЙ.	Кобылье молоко.	Кумысъ.
Пептона	0,035 ¹⁾	0,218
Сахара	5,494	0,734 ²⁾
Углекислоты	—	1,174
Алкоголя	—	1,960
Молоч. кисл.	—	0,781
Жира	1,584	1,764
Солей	0,333	0,344
Уд. вѣсъ	0,033	—
Плот. остат.	9,932	5,649
Воды ³⁾	90,068	94,351

Сопоставляя составъ кобыльего молока и кумыса, мы видимъ два явленія: 1) нѣкоторое уменьшеніе нормаль-

¹⁾ Примѣчаніе: Hofmeister, Ив. Шмидтъ и Догель въ свѣжемъ коровьемъ молокѣ не открыли пептоновъ. Наоборотъ, Шмидтъ—Мильгеймъ, Struve, Данилевскій, Ландау признаютъ ихъ существованіе въ количествѣ 0,08—0,32% (См. Борисовскій. Вліяніе газированія (СО₂) сырого молока на содержаніе въ немъ казеина, альбумина, альбумозы и пептона. Дис. 1893 г.). Такимъ образомъ, вопросъ о пептонахъ въ коровьемъ молокѣ еще не установленъ окончательно. Большинство анализовъ кобыльего молока вовсе не указываетъ на содержаніе въ немъ пептоновъ.

²⁾ Въ нѣкоторыхъ случаяхъ полное отсутствіе сахара.

³⁾ Количество воды рассчитано по плотному остатку.

ных бѣлковъ и появленіе вновь ихъ производныхъ (парапептона, гемиальбумозы и пептона) и 2) значительное уменьшеніе сахара, но зато появленіе новыхъ составныхъ частей, какъ CO_2 , алкоголя и молочной кислоты. Остальныя двѣ составныя части (соли и жиръ) представляютъ мало разницы (лишь небольшое увеличеніе количества жира). Явленія, означенныя во 2-мъ пунктѣ, представляются болѣе рѣзко выраженными, чѣмъ означенныя въ 1-мъ пунктѣ, такъ что мы только съ помощью органовъ чувствъ уже можемъ легко замѣтить въ кумысѣ и значительное присутствіе углекислоты, и кислотный вкусъ, а также и присутствіе алкоголя по слегка опьяняющему дѣйствию этого напитка. Разсмотрю сначала измѣненія, касающіяся бѣлковъ.

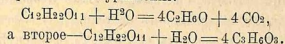
Фостеръ ¹⁾ говоритъ: «Всѣ протенины тѣла, за исключеніемъ лардацеина, даютъ пептоны (и другіе продукты), при обработкѣ ихъ кислымъ желудочнымъ сокомъ и щелочнымъ панкреатическимъ сокомъ; при томъ этого рода образованіе пептоновъ совершается какъ нельзя легче при температурѣ человѣческаго тѣла. Пептоны развиваются подобнымъ же образомъ, при отсутствіи пепсина и трипсина, подъ влияніемъ разведенныхъ или умѣренно крѣпкихъ кислотъ и извѣстной средней температуры, а также и подъ влияніемъ перегнанной воды и очень высокой температуры, при значительномъ давленіи ²⁾».

Алькогольное и молочно-кислое броженіе настолько изучены, что появленіе въ кумысѣ CO_2 , алкоголя и молочной кислоты несомнѣнно должно быть отнесено на

¹⁾ М. Фостеръ. Учебникъ физиологіи. Перев. съ англ. 1882 г. Т. II, стр. 448.—См. объ этомъ тоже у Фредерикъ и Нивалъ. Основы физиологіи человѣка. Перев. 1899 г. стр. 45 и 286.

²⁾ Шефферъ (Физиологическая химія, 1882 г. стр. 102), говоря объ образованіи пептоновъ, касается лишь дѣйствія пищеварительныхъ соковъ на бѣлки.

счетъ распадѣнія молочнаго сахара, при чемъ первое броженіе совершается по уравненію:



Зная сущность кумыснаго броженія, необходимо объяснить и причины, его производящія, а равно и болѣе благоприятныя для него условія. Броженіе, по Клодъ Бернару, ¹⁾ состоитъ въ разрушеніи сложныхъ соединеній, ихъ распадѣніи на болѣе простыя тѣла, сопровождаемомъ поглощеніемъ элементовъ воды. Еще во времена К. Бернара различались два вида броженія, смотря по растворимости или нерастворимости фермента, что имѣетъ полную силу и теперь: одинъ видъ броженія считался происходящимъ при дѣйствіи организованнаго или *форменнаго* фермента, а другой видъ—при дѣйствіи ферментовъ неформенныхъ, жидкихъ, продуктовъ *растворимыхъ*, вырабатываемыхъ и отдѣляемыхъ живыми организмами (энзимами).

Типомъ перваго рода броженія можетъ служить спиртовое броженіе, производимое пивными дрожжами. Къ этой же группѣ явленій нужно отнести превращенія сахара въ алкоголь, въ молочную кислоту, масляную, уксусную и пр. При этомъ организованный ферментъ размножается.

Типомъ другоаго вида броженія могутъ служить растительный диастазъ и пищеварительные ферменты. Общій признакъ ихъ тотъ, что они растворимы въ водѣ и осаждаются алкоголемъ; другая важная черта заключается въ томъ, что они и въ маломъ количествѣ способны производить превращенія очень большого количества даннаго вещества (1:2000 и болѣе), при чемъ сами не размножаются, а, наоборотъ, истощаются. ²⁾ Дѣйствіе ферментовъ

¹⁾ Клодъ Бернаръ. Жизненные явленія, общія животнымъ и растениямъ. Перев. 1878. стр. 135.

²⁾ Ibid.

находится въ зависимости отъ температуры, для которой существуютъ особые предѣлы, а также и optimum. (отъ 0° до 50° и 70° во влажномъ состояніи).¹⁾

Еще слѣдуетъ добавить объ одномъ ферментѣ, вырабатываемомъ, по преимуществу, дрожжевыми клѣтками *инвертинъ* (превращающѣмъ ферментѣ),²⁾ который превращаетъ тростниковый сахаръ въ виноградный, такъ какъ только при этомъ условіи первый можетъ быть утилизированъ въ организмѣ, т. е. окислиться.

Пастеръ установилъ положеніе: всякое броженіе и всякое гніеніе обусловлено микроорганизмами. Открывъ два вида микроорганизмовъ, изъ которыхъ одинъ можетъ жить лишь при доступѣ свободнаго кислорода, *аэробы*, а другіе, наоборотъ, могутъ жить только въ отсутствіи кислорода, *анаэробы*, онъ считалъ, что броженіе происходитъ анаэробнымъ путемъ, когда бродильные организмы вынуждены себѣ добывать кислородъ изъ окружающихъ веществъ, напримѣръ, дрожжи берутъ его у сахара, вызывая его броженіе или разрушеніе. «*Броженіе влечетъ съ тѣмъ есть очень обыкновенное явленіе. Оно есть жизнь безъ воздуха, жизнь безъ свободнаго кислорода.....*» говорить Пастеръ въ своихъ Etudes sur la bière (р. 261).³⁾

Однако Пастеръ послѣднее положеніе свое не считалъ въ совершенно строгомъ смыслѣ, и это видно изъ того, что онъ допускалъ (хотя и меньшую) способность дрожжей вызывать броженіе и при доступѣ воздуха. Hansen и Nägeli, съ особенной ясностью доказали надъ дрожжами, что они способны вызывать алкогольное броженіе и при

очень богатомъ доступѣ O, а Brown пришелъ даже къ заключенію, что клѣтки дрожжей проявляли бродильную дѣятельность сильнѣе при доступѣ воздуха, чѣмъ безъ воздуха.³⁾

И такъ изъ всего сказаннаго о броженіи можно сдѣлать тотъ выводъ, что оно состоитъ въ распаденіи болѣе сложныхъ химическихъ частицъ на болѣе простыя и обусловливается дѣятельностью ферментовъ, организованныхъ или неорганизованныхъ. Можетъ совершаться при доступѣ или безъ доступа свободнаго кислорода.

Переходя къ изученію кумыснаго броженія и оставляя пока въ сторонѣ энзимы, если только онѣ имѣются въ кумысѣ, я долженъ свести весь вопросъ къ разсмотрѣнію бродильной способности тѣхъ трехъ видовъ микроорганизмовъ, которые составляютъ постоянную флору кумыса. Такъ какъ кумысная палочка въ данномъ случаѣ является микроорганизмомъ совершенно неизвѣстнымъ, а остальные два *saccharomyces* и *b. acidі lactici* изучены уже въ значительной мѣрѣ, то, обследовавъ имѣющіяся данныя о послѣднихъ, можно будетъ высказаться до нѣкоторой степени и апіорнымъ путемъ о роли палочки, которую она играетъ въ кумысномъ броженіи. Въ заключеніе же приведу свои собственные опыты надъ броженіемъ кобыльаго молока подъ влияніемъ всѣхъ трехъ микроорганизмовъ, какъ въ отдѣльности, такъ и въ различныхъ комбинаціяхъ. Начну съ *saccharomyces*.

Saccharomyces. Алкогольное броженіе въ кумысѣ связывается обыкновенно только съ дрожжевымъ грибомъ. Алкогольное броженіе, вообще, можетъ вызываться не только дрожжевыми грибами, но и плесевыми, а также и бактеріями. (Jorgens. стр. 140). Подъ дрожжами под-

¹⁾ Фредерикъ и Нильс. Основы физиологіи человѣка. Пер. 1899. стр. 48

²⁾ Ibid, стр. 49, см. объ этомъ также у Кюль-Берн. I. с. стр. 136. Н. Меншуткинъ. Лекція орган. химіи, 1887 г. стр. 565.

³⁾ Цит. по Jørgensen'y. Die Mikroorganismen der Gährungsindustrie. 1898. S. 147.

⁴⁾ Ibid.

разумѣваютъ грибки, которые размножаются путемъ почкованія, но между ними выдѣляется особая группа, которая можетъ образовать эндогенныя споры при нѣкоторыхъ обстоятельствахъ; эта группа носитъ названіе *Saccharomyces* (Jörgensen).

Jörgensen въ своемъ сочиненіи «Die Mikroorganismen der Gährungsindustrie» приводитъ болѣе 25 различныхъ видовъ *Saccharomyces*, которые отличаются другъ отъ друга не только формой, но и своими биологическими свойствами ¹⁾. Къ какому же виду относится *saccharomyces*, встрѣчающійся въ кумысѣ? Есть очень важный признакъ, который позволяетъ ограничиться разсмотрѣніемъ лишь небольшого числа видовъ, могущихъ имѣть отношеніе къ кумысному броженію. Hansen ²⁾ изслѣдовалъ большое количество видовъ дрожжей по отношенію ихъ къ четыремъ родамъ сахара: сахарозѣ, мальтозѣ, лактозѣ и декстрозѣ; при этомъ оказалось, что большая часть видовъ дрожжей способна разлагать тотъ или другой видъ сахара, однако кромѣ лактозы. Къ числу ихъ относится также и *saccharomyces cerevisiae*, (пивныя дрожжи) ³⁾, къ каковому виду отнесены неправильно кумысныя дрожжи авторами (Сорокинымъ, Григорьевымъ, Голубовымъ). На стр. 187 своего труда Jörgensen говоритъ: «особое мѣсто занимаютъ разлагающія лактозу *Saccharomyces* и *Torula*».

Н. Меншуткинъ на стр. 398 «Лекцій по органической химіи» ⁴⁾ говоритъ по отношенію къ молочному сахару:

¹⁾ *Saccharomyces cerevisiae* I, S. Pastorianus I, S. Past. II, S. Past. III, S. ellipsoidus I, S. ellips. II, S. lictis, S. Aquifolii, S. pyriformis, S. Vordermanni, S. Marxianus, S. exiguus, S. Jörgensenii, S. membranaefaciens, S. Hansenii, S. Ludwigi, S. octosporus, S. Comesii, S. Pombe, S. mellacei, S. acidilactici, S. fragilis, S. minor, S. anomalus, S. conglomeratus, S. guttulatus, S. apiculatus.

²⁾ Jörgens. I. c. S. 184.

³⁾ Ibid. 207.

⁴⁾ Изд. 1897 г.

«чистыя пивныя дрожжи, хотя размножаются, но не вызываютъ спиртового броженія. Схизомицеты легко возбуждаютъ спиртовое броженіе этого сахара, при этомъ образуется и молочная кислота. Изъ кобыльего молока этимъ путемъ пріготовляется кумысъ. «Далѣе на стр. 401: «молочный сахаръ требуетъ для броженія особыхъ дрожжей». Grotenfelt'омъ и Jörgensen'омъ описаны сахаромицеты изъ встрѣчающихся видовъ дрожжей въ молокѣ и способныхъ расщеплять молочный сахаръ. Duclaux, Adametz, Kayser, Beyerink и Vochicciо описали грибки, также разлагающіе молочный сахаръ, но не изъ вида сахаромицетовъ, а такъ называемыхъ *Torula* ¹⁾.

Эти послѣднія формы были впервые установлены Hansen'омъ ²⁾. Сходство ихъ съ дрожжами заключается въ томъ, что онѣ подобно послѣднимъ размножаются почкованіемъ, а отличіе отъ сахаромицетовъ въ томъ, что они не могутъ образовать эндогенныхъ споръ. Они очень распространены въ природѣ. Между *Torula* имѣются шесть видовъ, которые разлагаютъ молочный сахаръ, вызывая алкогольное броженіе. Объ авторахъ, ихъ описавшихъ, было только что сказано.

Изъ этихъ видовъ *Torula* можетъ быть исключенъ теперь же—описанный Beyerink'омъ подъ именемъ «*Saccharomyces Kerhug*», такъ какъ онъ даетъ колоніи, разжижающія желатину. О всѣхъ остальныхъ видахъ слѣдуетъ замѣтить, что они или вовсе не производятъ кислоты или слѣды.

Перехожу теперь къ дрожжевымъ клѣткамъ, наблюдавшимся въ кумысѣ. Изъ авторовъ, касавшихся бактериологіи кумыса, въ особенности подробно описываетъ дрож-

¹⁾ Jörgens. S. 186.

²⁾ Ibid. S. 248.

жевые грибки д-ръ Штанге. На стр. 27 своего труда ¹⁾ онъ говоритъ: «въ кумысѣ *saccharomyces* имѣетъ нѣсколько овальную форму; онѣ меньше, чѣмъ клѣтки пивныхъ дрожжей, и достигаютъ въ своемъ длинномъ размѣрѣ 10 μ ; другой болѣе короткій размѣръ ихъ 7—8 μ . Это самыя большіе экземпляры; большинство въ половину меньше; большія клѣтки имѣютъ явно оболочку, которая темнѣе окрашивается; почти въ каждой большой клѣткѣ есть центрально расположенное ядро, которое легко окрашивается въ другой цвѣтъ по способу Коха-Эрлиха, однако цвѣтъ получается не ярко красный, какъ напр. у Коховской палочки, а темно-фіолетовый; это объясняется тѣмъ, что красное ядро окружено синимъ веществомъ самой клѣтки, а потому кажется фіолетовымъ. Изъ этого слѣдуетъ, что ядро лежитъ не на поверхности, а въ глубинѣ клѣтки... Иногда такое красное ядро лежитъ возлѣ синей клѣтки и напоминаетъ спору, отдѣлившуюся отъ нея, но въ клѣткѣ не замѣтно полости вслѣдствіе окраски подлежащаго вещества ея». Далѣе авторъ говоритъ о часто наблюдающемся почкованіи кумысныхъ дрожжей, при чемъ ядра уже не замѣтно. Онъ не допускаетъ, что дрожжи могутъ вызывать броженіе въ растворѣ молочнаго сахара, если не ввести туда и молочно-кислую бактерію. Признавая, вообще, что для дрожжевыхъ грибовъ болѣе благоприятна кислая среда, д-ръ Штанге допускаетъ, что они могутъ вызывать лишь алкогольное броженіе.

Мои наблюденія надъ кумысными дрожжами убѣдили меня, что встрѣчаются клѣтки и со спорами и безъ споръ, а также очень часто встрѣчается и почкованіе. Долженъ прибавить, что встрѣчаются иногда (по преимуществу въ старыхъ культурахъ) очень вытянутые одѣльные инди-

¹⁾ Д-ръ Штанге. Лечение кумысомъ и пепиномъ. 1886 г.

видуумы ¹⁾. На пластинкахъ дрожжи кумыса даютъ бѣловатыя, совершенно круглыя, рѣзко ограниченныя и выцуклыя колоніи, а по уколу въ желатинѣ многочисленныя и длинные отростки въ видѣ нитей. На кислой средѣ растутъ лучше, однако развиваются хорошо и на щелочной.

Я сдѣлалъ небольшое число опытовъ (2) съ поствами кумысныхъ дрожжей въ стерилизованное кобылье молоко. Кромѣ алкогольнаго броженія, наблюдалъ также и молочно-кислое.

Не беря на себя подвести кумысныя дрожжи точно подъ опредѣленный видъ, я ограничиваюсь тѣмъ, что изъ многочисленныхъ видовъ *saccharomyces* указалъ выше на немногіе, которые могутъ имѣть отношеніе къ кумысу. Возможно предположить, что имѣется особый видъ «кумыснаго *saccharomyces*» подобно тому, какъ существуетъ «*Saccharomyces Kephyr*» Beyerink'a.

Въ виду же того, что въ кумысѣ встрѣчаются клѣтки со спорами и безъ споръ, а также и очень удлиненыя формы, можетъ возникнуть вопросъ о существованіи нѣсколькихъ видовъ дрожжей въ кумысѣ. Мнѣ кажется, нѣтъ необходимости здѣсь допускать различныя виды дрожжей, такъ какъ съ одной стороны мы знаемъ, что многіе микроорганизмы образуютъ споры лишь при извѣстныхъ условіяхъ ²⁾, и, кромѣ того, споры появляются въ извѣстныхъ стадіяхъ развитія клѣтки, что уже прямо ведетъ не къ одновременному образованію споръ во всѣхъ особяхъ, а съ другой стороны, стоитъ лишь взглянуть на изображенія нѣкоторыхъ дрожжевыхъ видовъ (какъ напр. *Saccharomyces cerevisiae*, *S. Pastorianus*, *S. ellipsoideus*), чтобы убѣдиться, что рядомъ съ круглыми и овальными клѣтками есть весьма вытянутыя. И такъ слѣдуетъ придти

¹⁾ См. объ этомъ также у Голубова.

²⁾ См. Günther, стр. 16 и 17.

къ заключенію, что въ кумысѣ имѣется видъ дрожжей, *saccharomyces* (т. е. хотя и размножающійся почкованіемъ, но все-таки способный давать эндогенныя споры), могущій разлагать молочный сахаръ, вызывая спиртовое броженіе (лишь въ кислой средѣ, по авторамъ) и молочнокислое (по моимъ наблюденіямъ) ¹⁾. Факультативный анаэробъ.

Bacillus acidi lactici. Второй микроорганизмъ кумыса изъ болѣе изученныхъ есть молочнокислая бактерія. Авторы ²⁾, занимавшіеся изученіемъ бактерій кумыса, относятъ ее къ тому виду, который былъ сначала описанъ Пастѣромъ, а потомъ Нүрре. За основную форму молочнокислой палочки кумыса Голубовъ считаетъ короткую бисвито-образную палочку. Размѣры этой палочки по Голубову слѣдующіе: ширина 0,3—1 μ , а длина вдвое больше. Палочка имѣетъ перетяжку по срединѣ, въ каковомъ мѣстѣ и происходитъ послѣ ея дѣленіе на 2 членика. Въ пептонномъ бульонѣ образуется на поверхности желтоватая сплошная пленка, которая затѣмъ постепенно опадаетъ на дно клочками, образуя сѣловато-желтый осадокъ. Желатину палочка не разжижаетъ. По уколу въ желатинѣ образуется четкообразная нить изъ желтовато-бѣлыхъ зеренъ. На пластинкѣ, на агарѣ, палочка даетъ колоніи въ видѣ круглыхъ блестящихъ бляшекъ, по срединѣ желтоватыхъ.

Въ молокѣ, по Голубову, эта палочка вызываетъ только образованіе молочной кислоты, съ осѣданіемъ на днѣ казеина; пептонизаціи бѣлковъ она не вызываетъ (въ чистой культурѣ).

По наблюденіямъ д-ра Штанге молочнокислая бактерія встрѣчается всего обильнѣе въ молодомъ кумысѣ;

¹⁾ См. ниже.

²⁾ Штанге и Голубовъ.

уже въ 2-хъ сутокномъ ея гораздо меньше, такъ что встрѣчается тогда не въ каждомъ полѣ зрѣнія.

Въ общемъ нужно признать, что на сотню кумысныхъ палочекъ придется не болѣе 2—5 (приблиз.) палочекъ молочнокислаго броженія.

Что касается формы и культуръ этихъ палочекъ въ бульонѣ, молокѣ, на желатинѣ и агарѣ, то я своими наблюденіями въ этомъ отношеніи могу лишь подтвердить сказанное, съ оговоркой относительно коровьяго молока, въ которомъ у меня происходило свертываніе казеина *безъ осажденія на дно сосуда*.

Кобылье молоко относится нѣсколько иначе: свертываніе молока не произошло и, кромѣ молочной кислоты, я могъ доказать присутствіе CO_2 и спирта, а также и пептона.

Что изъ многихъ теперь извѣстныхъ видовъ бактерій молочнокислаго броженія есть и такія, которыя могутъ вызывать и образованіе CO_2 съ алкоголемъ, на это можно найти указанія, напр. у Серковскаго ¹⁾ (*Bac. acidi lactici* Нүрре), у Jørgensen'a (*saccharobacillus* Pastorianus, описанный Lae'гомъ; виды, описанные Grotenfeld'омъ) ²⁾.

Если прибавить къ этому, что и образованіе пептоновъ въ бродящемъ молокѣ, какъ это уже доказано опытами (Голубовъ, Duclaux) ³⁾, находится въ зависимости отъ *bacillus acidi lactici* и *saccharomyces*, то нужно придти къ заключенію, что кумысное броженіе можетъ происходить и благодаря присутствію лишь двухъ только что описанныхъ микроорганизмовъ.

Значеніе кумысной палочки при броженіи кумыса. Какая же роль выпадаетъ такимъ образомъ на

¹⁾ С. Серковскій. Пособіе для распознаванія микробовъ. 1898 г. стр. 3.

²⁾ Jørgensen l. c. стр. 78 и 79.

³⁾ См. ниже.

долю кумысной палочки? Чтобы на этот вопрос получить отвѣтъ, слѣдуетъ рѣшить дилемму: 1) кумысная палочка не играетъ никакой роли въ кумысномъ броженіи, а развивается въ кумысѣ лишь потому, что находится въ немъ благоприятныя условия для своего развитія, или 2) кумысная палочка принимаетъ дѣятельное участіе въ кумысномъ броженіи, при чемъ характеръ ея дѣятельности, по необходимости, долженъ походить на характеръ дѣятельности *saccharomyces* или *b. ac lactici*, или же обонхъ вмѣстѣ.

Дилемма эта разрѣшена моими опытами во второмъ смыслѣ.

Привожу здѣсь данныя анализа кобыльего молока бродившаго подъ вліяніемъ только одной кумысной палочки (при условіяхъ герметическаго запора и взбалтыванія, что необходимо отмѣтить): CO_2 до 0,3%, молочной кислоты до 0,45%; присутствие алкоголя и пептона доказано только качественно ¹⁾. *И такъ кумысная палочка вызываетъ какъ спиртовое, такъ и молочно-кислое броженіе, а равно и образованіе пептона.*

О лабораторномъ кумысѣ. Я коснулся также и вопроса о приготовленіи кумыса лабораторнымъ путемъ (путемъ прививки микроорганизмовъ въ кобылье молоко), съ одной стороны, имѣя въ виду пополнить биологическія свойства кумысной палочки, а съ другой, практической интересъ, такъ какъ такой способъ обезпечилъ бы и наибольшую чистоту напитка и далъ бы возможность вызывать вновь броженіе наипростѣйшимъ образомъ. Прежде чѣмъ перейти къ описанію своихъ опытовъ въ этомъ направленіи, я долженъ сказать нѣсколько словъ о способахъ приготовленіи кумыса, какіе практикуются въ кумысныхъ заведеніяхъ, а также и у кочующихъ ино-

¹⁾ См. ниже.

родцевъ, готовящихъ кумысъ въ обширныхъ размѣрахъ въ качествѣ обдѣннаго напитка.

Приготовленіе кумыса. Заимствую описаніе приготовленія кумыса у Вилы ¹⁾: «Каждый разъ послѣ доенія начинается приготовленіе кумыса. Еще теплое молоко вливается въ узкія высокія кадки, въ которыхъ находился готовый кумысъ въ такомъ количествѣ, чтобы на каждыя 10 бутылокъ вливаемого свѣжаго молока приходилась 1 бутылка готоваго кумыса. Помощью палки, къ нижнему концу которой прикрѣпляется круглая доска съ проверченными въ ней дырками (діаметръ доски приблизительно равенъ половинѣ діаметра кадки), смѣсь взбиваютъ, но не особенно сильно; черезъ каждыя 5 минутъ дѣлается 5-ти минутный промежутокъ. Лѣтомъ эта операція производится при обыкновенной температурѣ, а зимою вблизи топящейся печки. Взбиваніе, съ одной стороны, предупреждаетъ скисаніе молока, а съ другой стороны, этимъ путемъ мы достигаемъ тѣснаго соприкосновенія возможно большей части жидкости съ атмосфернымъ воздухомъ. Смотря по степени выносливости рабочихъ, при поддержаніи надлежащей температуры при броженіи и умѣни ихъ взбивать кумысъ во время и ровно столько, сколько слѣдуетъ, вкусъ кумыса и вообще доброкачественность его бываютъ различны. Уже въ самомъ началѣ операціи въ окружающей атмосферѣ распространяется своеобразный запахъ, свойственный кумысу. По прошествіи двухъ или трехъ часовъ берутъ въ рюмку на пробу небольшое количество жидкости; если при спокойномъ положеніи рюмки на днѣ ея поднимаются маленькіе пузырьки, то это служитъ признакомъ, что кумысъ готовъ. Его разливаютъ въ бутылки изъ толстаго

¹⁾ 1. с. стр. 5 и слѣд.

стекла (для чего обыкновенно берут бутылки из под шампанскаго), закупоривают, обвязывают пробку проволокой и ставят в ледник, гдѣ и оставляют до самага употребленія. Температура таянія льда, въ которой при этомъ находится кумысъ, нисколько не препятствуетъ броженію, которое медленно продолжается въ бутылкахъ. При этомъ образуется значительное количество угольной кислоты, которая нерѣдко разрываетъ бутылки.

У Штанге ⁴⁾ мы находимъ описаніе приготовленія кумыса въ сабахъ, въ кадкахъ и бутылкахъ, а также и приготовленіе закваски кумыса, если нѣтъ готового.

Кумысъ въ сабахъ готовятъ инородцы. Сабами называются мѣшки изъ лошадиной шкуры, длиною въ 2—3 фута, конической формы съ широкимъ основаніемъ; сверху саба оканчивается узкимъ рукавомъ, въ который вставляется длинная палка, на внутреннемъ концѣ которой прикрѣпляется дырчатый деревянный дискъ, служащій для разбалтыванія кумыса. По мѣрѣ того, какъ саба опорожняется отъ кумыса, она доливаема свѣжимъ молокомъ, и броженіе продолжается, при помѣшываніи отъ времени до времени. Случается, что черезъ нѣсколько недѣль, или даже дней, броженіе принимаетъ другой характеръ или совсѣмъ прекращается. Тогда саба моется, сушится, коптится дымомъ и вообще приводится въ порядокъ, послѣ чего можетъ служить снова для кумысаго броженія.

Описаніе приготовленія кумыса въ кадкахъ почти ничѣмъ не отличается отъ такового же у Била. Слѣдуетъ лишь добавить, что въ кадкахъ можно получать 2-хъ дневный и 3-хъ дневный кумысъ, при чемъ требуется и въ эти дни взбалтывать его, хотя и значительно рѣже, чѣмъ въ первый день.

⁴⁾ Д-ръ Штанге. Лечение кумысомъ и кофиромъ. 1896, стр. 21.

Приготавливаемый въ кадкахъ кумысъ бродитъ при постоянномъ доступѣ воздуха и при свободномъ выдѣленіи углекислоты.

Способъ приготовленія бутылочнаго кумыса отличается отъ описаннаго тѣмъ, что кумысъ разливается въ бутылки въ первая же сутки, и вообще, лишь только будетъ замѣчено, что наступило уже правильное броженіе. Кумысъ раздѣляется на слабый, средний и крѣпкій; послѣдній въ стѣняхъ, на югѣ, можно получить въ теченіе даже 24 часовъ, такъ какъ тамъ броженіе идетъ быстрее. Такимъ образомъ мы видимъ, что если имѣется готовый кумысъ, то дальнѣйшее его приготовленіе очень не сложно.

Оно состоитъ, съ бактериологической точки зрѣнія, просто въ разбавленіи болѣе старой культуры извѣстныхъ уже микроорганизмовъ въ кобыльемъ молокѣ—свѣжимъ кобыльимъ же молокомъ въ той или другой пропорціи, ¹⁾ и въ взбалтываніи смѣси, чтобы микроорганизмы не осѣли на дно и легче могли придти въ соприкосновеніе съ питательной средой на всемъ пространствѣ, въ результатѣ чего размноженіе грибовъ въ смѣси черезъ 1—2 сутокъ доходить до такой же степени, какъ и въ первоначальномъ кумысѣ, при чемъ это размноженіе ведетъ къ тѣмъ измѣненіямъ составныхъ частей молока, которыми характеризуется кумысъ. Весьма интересныя данныя приводятся у д-ра Штанге о закваскѣ кумыса, которыя я и занимаю сполна. «Первоначальной закваской служить или осадокъ стараго прошлогодняго кумыса, высушенный на солнцѣ,—лучше всего такой осадокъ промыть смѣсью спирта и эфира для удаленія легко портящихся жировъ. Если нѣтъ такого осадка, то закваску готовятъ искусственно. Кочевья племена квасятъ кобылье молоко чаще всего смѣсью меда съ мукой; весьма часто для

¹⁾ Смотря по крѣпости кумыса, въ отношеніи 1 : 5—10.

начала спиртового брожения употребляется кислое коровье молоко, разбавленное наполовину водою. Какъ курьезъ приводятся авторами и другіе способы закваски молока: кускомъ свѣжей лошадиной шкуры, старой мѣдной монетой и т. п. ¹⁾ Въ большихъ кумысныхъ заведеніяхъ выработались, конечно, болѣе разумные способы закваски, которые сообщены Каррикомъ. Вотъ какъ приготавливаютъ закваску покойный докторъ Чембулатовъ, стоявшій долгое время во главѣ большого кумыснаго заведенія, нынѣ закрытаго: берется фунтъ пшена, разводится въ водѣ и варится отдѣльно, какъ каша. Въ другой посудѣ нужно вскипятить отдѣльно полведра молока, которое потомъ остужается. Когда оно остынетъ до 35° Ц., нужно слить его въ деревянную кадочку и влить туда же вскипяченное пшено. Отверстіе кадочки накрывается послѣ того холстомъ, и жидкость ставится въ t° около 30° Р. на 1—2 сутокъ. Появленіе на поверхности мелкихъ пузырьковъ, въ соединеніи съ виннымъ или кислымъ запахомъ, служить доказательствомъ, что бродило готово. Къ бродащей жидкости прибавляется постепенно (черезъ каждыя 10 минутъ) до ведра свѣжаго молока, и вся эта масса непрерывно сбивается въ продолженіе 12 часовъ. Во время сбиванія t° не должна превышать 27° С. Въ жидкости начинается броженіе, и черезъ 12 часовъ кумысъ готовъ. — Вотъ еще рецептъ доктора Постникова: 1/2 фунт. пшена и 1/4 ф. солода смѣшать съ достаточнымъ количествомъ меда, положить это тѣсто въ чистый кувшинъ, накрытый полотняной тряпкой, и поставить въ горячую печь. Когда масса начнетъ подниматься, ее нужно вынуть изъ печи, завязать, опустить въ чистый глиняный кувшинъ, содержащій въ себѣ около бутылки свѣжаго кобыляго молока,

¹⁾ У другихъ авторовъ еще: кровья, личнымъ блѣномъ, плесень, мясомъ и т. п.

и поставить въ такую же t°, въ какой стояло и тѣсто. Какъ скоро въ жидкости появятся признаки броженія, тѣсто нужно вынуть изъ нея, а молоко, помѣшавъ, оставить въ той же t°. При первомъ появленіи въ немъ пузырьковъ его нужно вынуть, и бродило готово.

Въ этихъ рецептахъ ничего не говорится о дрожжахъ, которыя не рѣдко прибавляются къ закваскѣ въ количествѣ 1—2 столовыхъ ложекъ; прибавленіе дрожжей ускоряетъ броженіе. Сущность заквашиванія сводится на прибавленіе къ молоку извѣстныхъ микроорганизмовъ, разлагающихъ молочный сахаръ. Этихъ микроорганизмовъ нѣсколько, изъ нихъ молочно-кислое бродило вводится съ кислымъ коровимъ молокомъ, сахарное вводится съ дрожжами; дальнѣйшими изслѣдованіями, вѣроятно, удастся выяснитъ, откуда берется 3-й микроорганизмъ — кумысная палочка; если эта палочка не принадлежитъ какому нибудь всюду распространенному виду, начинающему развиваться во всякой подходящей средѣ; если это микроорганизмъ, развивающійся только въ кумысѣ, что впрочемъ весьма сомнительно, тогда весь секретъ закваски сведется къ выясненію условій сохраненія этой палочки.

Всѣ перечисленные разнообразные способы закваски, приводящіе однако къ одному и тому же результату, очевидно должны играть второстепенную роль въ броженіи кумыса, будучи лишь носителями необходимыхъ, по крайней мѣрѣ, для начала броженія микроорганизмовъ, тѣмъ болѣе, что едва ли отъ мѣдной монеты или куска лошадиной шкуры разовьется съ перваго же раза полное кумысное броженіе, а между тѣмъ уже одна молочно-кислая бактерія обезпечиваетъ, благодаря развитію кислой реакціи, молоко противъ заселенія его другими микроорганизмами и, при томъ, можетъ вызвать также и образованіе CO₂ и алкоголя. Поселеніе же въ такомъ кумысѣ

дрожжевыхъ грибовъ и кумысной папочки можетъ совершиться уже впоследствии. Тогда получится, именно, такой кумысъ, который считается вполне удачнымъ.

Качества кумыса зависятъ отъ многихъ условий: доброкачественности молока, чистоты посуды, температуры, частоты взбалтыванія, времени сливанія молодого кумыса, количества и качества закваски ¹⁾.

Скажу здѣсь нѣсколько словъ еще о такъ называемыхъ заболѣваніяхъ кумыса, описанныхъ Шеромъ ²⁾. Шеръ различаетъ три заболѣванія кумыса:

I. Уксусно-кислое броженіе.

Бываетъ въ молодомъ кумысѣ и зависитъ отъ *Mycoderma aceti*.

II. Слизистое броженіе.

Наблюдается тоже въ молодомъ кумысѣ, при чемъ кумысъ, налитый въ стаканъ, черезъ 2—3 мин. дѣлится на 2 слоя, верхній водянистый и нижній густой, изъ хлопьевъ. Количество образовавшаго въ такомъ кумысѣ спирта и молочной кислоты уменьшено. Причина неизвѣстна; Шеръ объясняетъ его слабостью закваски, т. е. вырожденіемъ микроорганизмовъ.

III. Бутыровое броженіе.

Кромѣ высокой температуры (30°P.) и недостаточнаго сливанія, причиной бутыроваго броженія слѣдуетъ считать неопрятное содержаніе посуды, въ которой готовится кумысъ. Мѣры противъ этого заболѣванія: температура во время приготовленія не должна быть выше 24°, молоко должно быть часто взбиваемо, и посуда очень чиста.

¹⁾ Орловъ. Къ вопросу о «нестенномъ» кумысѣ и методикѣ анализа кумыса. 1890 г., стр. 23.

²⁾ Шеръ. М. В. «Медицина» 1890. №№ 10, 11 и 12.

Собственные опыты. Переходя къ собственнымъ опытамъ, имѣвшимъ цѣлью разрѣшить вопросъ о приготовленіи кумыса лабораторнымъ путемъ, я долженъ сказать нѣсколько словъ о тѣхъ методахъ, которыми я пользовался для опредѣленія составныхъ частей кумыса. Кумысъ, какъ уже раньше было сказано, отличается отъ кобыльаго молока тѣмъ, что въ немъ находятся CO₂, алкоголь, молочная кислота и пептонъ съ промежуточными стадіями измѣненія бѣлковъ, уменьшеніе сахара (даже до полного исчезновенія), а также бѣлковъ. CO₂ я опредѣлялъ съ помощью титрованія, по уменьшенію щелочности раствора барита, пришедшаго въ соприкосновеніе съ CO₂. Титръ щавелевой кислоты былъ установленъ такимъ образомъ, что 1 к. с. его соответствовалъ 5 мгм. CO₂ (14,318 : 1000). Растворъ бѣдкаго барита былъ приготовленъ какъ 35 : 1000 ¹⁾.

Алкоголь опредѣлялся лишь качественно нагрѣваніемъ испытуемой жидкости съ K₂Cr₂O₇ и H₂SO₄, при чемъ появлялось зеленое окрашиваніе жидкости (получается альдегидъ и уксусная кислота) ²⁾.

Молочная кислота, качественно, опредѣлялась съ помощью реактива Uffelmann'a: отъ прибавленія къ разведенному (1%) раствору карболовой кислоты нѣсколькихъ капель подутора-хлористаго желѣза получается реактивъ насыщеннаго синяго цвѣта (карболово-кислое желѣзо), который переходитъ въ желтый цвѣтъ подъ влияніемъ молочной кислоты. Количественное опредѣленіе общей кислотности производилось, по удаленіи CO₂ изъ жидкости, титрованіемъ съ помощью децинормальнаго раствора NaHO,

¹⁾ Субботинъ, И. М. Къ вопросу о колич. опред. углекислоты въ воздухѣ. Дис. 1892 г.

²⁾ Тихомировъ. Курсъ фармаціи. 1882 г. стр. 218.

который проверялся по установленному титру щавелевой кислоты. Расчет велся на молочную кислоту ($C_2 H_6 O_4$).

Я руководствовался при этом работой Орлова. (Къ вопросу о «нестепномъ» кумысѣ и методикѣ анализа кумыса. 1890 г. стр. 11), опредѣленіемъ кислотности пива у Канонникова («Руковод. къ химическ. изслѣд. питат. вѣщ.» 1891 г. стр. 141), а также тѣмъ, что, по анализамъ авторовъ въ нормальномъ кумысѣ, приводится только одна молочная кислота. Реакція Uffelmana была выражена каждый разъ отчетливо. Сахаръ опредѣлялся съ помощью Феллинговой жидкости, составленной такимъ образомъ: 34,639 гтм. чистой кристаллической сѣрникойсиды мѣди растворялось въ водѣ, и растворъ доводился до 500 к. ц.; далѣе 173 гтм. совершенно чистой кристаллической Селетовой соли растворялось въ водѣ, прибавлялось 100 к. ц. натроннаго щелока, содержащаго 50 гтм. $NaHO$, и растворъ разбавлялся до 500 к. ц. При употребленіи, каждый разъ одинаковые объемы обоихъ растворовъ хорошо смѣшивались. 20 куб. цент. Феллинговой жидкости для полной редукціи окиси мѣди требуютъ 0,134 гтм. молочнаго сахара или 1 куб. цен. Феллинговой жидкости требуетъ 0,0067 гтм. молочн. сахара ¹⁾).

Для выдѣленія бѣлковъ кобылье молоко, цѣльное или уже перебродившее, кипятится съ равнымъ количествомъ насыщеннаго раствора $NaCl$ (въ первомъ случаѣ послѣ подкисленія нѣсколькими каплями уксусной кислоты) и по охлажденіи фильтровалось ²⁾); фильтратъ разбавлялся дистиллированной водой промываніемъ черезъ фильтръ въ такомъ количествѣ, чтобы первоначально взятый объемъ

¹⁾ F. Hoppe-Seyler. Handbuch der Physiologisch und Pathologisch-Chemischen Analyse. 1893. S. 373.

²⁾ См. Орловъ. Къ вопросу о нестеп. кум. и пр. 1890 г. стр. 5. Бѣлк. Вып. ковныя вещества кумыса и кефира, 1886, стр. 25.

жидкости былъ разбавленъ въ 10 разъ, послѣ чего онъ вливался въ бюретку. 10 куб. ц. феллинговой жидкости вливались въ Эрленмейеровскую колбу, разбавлялись въ 4—5 разъ водою и подогревались до слабого кипѣнія; сахарный растворъ вливался мало по малу до появленія кирпично-краснаго осадка. Конечъ реакціи опредѣлялся съ помощью контрольной пробы на избытокъ сахара и мѣди ¹⁾).

Тотъ же фильтратъ, который брался для опредѣленія сахара, употреблялся и для опредѣленія пептона. Пептонъ опредѣлялся лишь качественно съ помощью бюретовой реакціи.

Для опытовъ съ броженіемъ я пользовался обыкновенными аптечными стеклянками въ 4 и 6 унцій. Стеклянки эти закрывались каучуковыми пробками съ отверстіемъ, въ которое вставлялась изогнутая стеклянная трубка, имѣющая на горизонтальномъ колѣнѣ небольшое суженіе для ваты; на стеклянную трубку надѣвался кусокъ резиновой трубки, который на свободномъ концѣ закрывался соответственной толщины стеклянной пробкой. При надлежачемъ закрѣпленіи въ соответственныхъ мѣстахъ тонкой веревочкой и заливаніи парафиномъ получается полная герметичность запора. Удобство подобнаго запора состоитъ въ томъ, что имѣется возможность, по растяженію каучуковой трубки, во всякое время слѣдить за напряженіемъ газа въ стеклянкѣ, а съ другой стороны, при анализѣ газа, его чрезвычайно легко перевести въ газопрѣмникъ, соединивъ съ послѣднимъ стеклянку при помощи той же резиновой трубки. Нѣсколько опытовъ было сдѣлано также въ бутылкахъ изъ подъ сельтерской воды съ герметическимъ запоромъ.

¹⁾ См. Д. Кошляковъ. Анализъ мочи, 1880 г., стр. 133.

Мною было сдѣлано до 20 опытовъ съ броженіемъ кобыльего молока. Меньшая часть была посвящена изученію дѣйствія отдѣльныхъ микроорганизмовъ и ихъ комбинацій по 2, а большая часть комбинаціи изъ всѣхъ трехъ ¹⁾. Всѣ опыты были произведены въ сосудахъ съ герметическимъ затворомъ и при комнатной температурѣ, которая колебалась отъ 16 до 25° С. (по случаю лѣтнаго времени).

Еще на страницѣ 39 было сказано, что *saccharomyces* кумыса можетъ производить не только спиртовое броженіе, но и молочно-кислое. Последнее мною выведено изъ моихъ опытовъ и находить подтвержденіе въ слѣдующихъ словахъ: Günther'a ²⁾; «По Th. Smith'y (Th. Smith. Centralbl. f. Bakt. Bd. 8. 1890 № 13) всѣ виды бактерій, которые могутъ развиваться въ отсутствіи свободного кислорода (т. е. истинные и факультативные анаэробы), образуютъ при анаэробномъ ростѣ въ присутствіи винограднаго сахара кислоту.

Хотя здѣсь говорится только о виноградномъ сахарѣ, но, по крайней мѣрѣ для нѣкоторыхъ видовъ, можно допустить, по аналогіи, то же самое и относительно молочнаго сахара.

Въ опытахъ съ *saccharomyces* мною было получено до 0,495% молочной кислоты, при чемъ свертыванія молока замѣчено не было. Спиртовое броженіе было выражено слабо.

Было констатировано также несомнѣнное присутствіе пептона.

Проф. Голубовъ въ послѣдней своей книжкѣ («О кумысѣ

¹⁾ Микроорганизмы брались изъ чистыхъ культуръ на плотныхъ средахъ, (б. ч. желатинѣ), куда они прививались изъ кумыса.

²⁾Günther. l. c. S. 64. См. также у Jørgensen'a—*Saccharomyces acidi lactici* Grotenfelt'a.

и леченіи имъ» 1899) на стр. 49, въ примѣчаніи, говорить: «Проф. Duclaux сообщилъ мнѣ въ бытность мою въ его лабораторію въ 1891 г., что ему удавалось получать пептонизацию, культивируя въ молокѣ одинъ *Saccharomyces*, чего при моихъ опытахъ не получалось».

Относительно *b. acidi lactici* также было сказано (съ приведеніемъ относящейся сюда литературы), что она, кромѣ молочно-кислаго броженія, можетъ вызывать и спиртовое. Въ опытахъ съ нею, я получилъ слѣдующія числа: CO_2 до 0,137%, молочной кислоты до 0,616%. Кромѣ того было опредѣлено и присутствіе пептона ¹⁾.

О кумысой палочкѣ слѣдуетъ лишь повторить уже сказанное, именно, что она вызываетъ какъ молочно-кислое броженіе, съ образованіемъ тоже пептона, такъ и спиртовое. CO_2 получалось до 0,3%, молочной кислоты до 0,45%. Однако слѣдуетъ добавить еще то, что въ моихъ опытахъ съ чистой культурой кумысной палочки, черезъ нѣсколько дней послѣ постава (смотря по частотѣ взбалтыванія), получалось свертываніе казеина и осѣданіе его на дно. Затѣмъ, спустя нѣсколько дней осадокъ исчезалъ и полупрозрачная сыворотка вторично принимала молочный видъ. По всей вѣроятности, здѣсь происходила суспензія казеина, который всплывалъ на верхъ, слѣдъ наступленія болѣе энергичнаго спиртоваго броженія, благодаря постоянно образующимся и поднимающимся вверхъ пузырькамъ CO_2 .

¹⁾ На стр. 31 было указано на возможность образованія пептоновъ и безъ организованныхъ ферментовъ, а отъ дѣйствія только минеральныхъ кислотъ. По всей вѣроятности, одно уже присутствіе также и молочной кислоты можетъ вызвать (хотя отчасти) пептонизацію бѣлковъ. Объ этомъ высказывается также и Дохманъ (см. Eulenb.—Афанасьевъ Реальн. Энцикл. мед. наукъ 1893 г. стр. 704). «На прекращеніе молочно-кислаго броженія указываетъ то, что кислотность кумыса болѣе не возрастаетъ; напротивъ, она постепенно понижается, благодаря тому обстоятельству, что часть молочной кислоты расходуется на гидратацию бѣлковъ (Дохманъ)».

Въ подтвержденіе этого могу привести слѣдующія наблюденія. Изъ бутылки обыкновеннаго кумыса была взята часть кумыса, при чемъ былъ выпущенъ весь свободный углекислый газъ; на другой день замѣченъ былъ обильный осадокъ, и при вторичномъ откупориваніи свободного газа не было обнаружено. Этотъ же кумысъ, послѣ взбалтыванія, примѣненный въ качествѣ закваски, далъ черезъ 2 дня прекрасный кумысъ съ обиліемъ газа (взбалтываніе производилось нѣсколько разъ).

Точно также въ моихъ опытахъ съ броженіемъ, послѣ осажденія казеина на дно, наступалъ періодъ, когда казеинъ отличался чрезвычайной подвижностью, такъ что слабо колебанія сосуда было достаточно, чтобы онъ всплылъ наверхъ, и сыворотка принимала молочный видъ; черезъ нѣсколько часовъ снова получался осадокъ, но уже съ большимъ трудомъ. Такъ продолжалось до тѣхъ поръ, пока сыворотка постоянно удерживала молочный видъ, и осадка уже не получалось.

Опыты съ послѣвомъ комбинацій микроорганизмовъ по 2, ничего особеннаго не дали (кромѣ нѣсколько сильнѣе выраженнаго броженія).

Броженіе, которое вызывалось всѣми 3 микроорганизмами и которое должно было соответствовать настоящему кумысному броженію, также дало цифры, мало уклоняющіяся отъ приведенныхъ выше для отдѣльныхъ микроорганизмовъ. Больше 0,2% CO_2 мною получено не было, а высшая цифра для молочной кислоты 0,785%. Алкоголь и пептонъ опредѣлялись, какъ и во всѣхъ прочихъ случаяхъ, только качественно. Во всѣхъ случаяхъ было доказано также и соответственное уменьшеніе количества сахара. Количество сахара въ кобыльемъ молокѣ было опредѣлено равнымъ 6,63%. (принимая по Гоппе-Зейлеру,

что 1 к. ц. Феллинговой жидкости разлагаетъ 0,00675 грм. молочнаго сахара) ¹⁾.

Опыты мои не были одинаковы во всѣхъ случаяхъ. Вначалѣ я ограничивался одной только прививкой микроорганизмовъ въ стерилизованное кобылье молоко: броженіе было выражено очень слабо, а въ одномъ случаѣ даже не послѣдовало вовсе (хотя и было доказано микроскопически присутствіе привитаго микроорганизма на днѣ сосуда). Затѣмъ я сталъ примѣнять взбалтываніе, подражая способамъ приготовленія кумыса въ кумысныхъ заведеніяхъ: броженіе наступало раньше и было выражено рельефнѣе. И тутъ свертываніе казеина и осѣданіе на дно происходили, со временемъ исчезая, при чемъ этотъ процессъ совершался значительно быстрѣе при болѣе частомъ взбалтываніи. Продолжительность броженія 10—20 и болѣе дней. Далѣе было испробовано примѣненіе побродившаго молока въ качествѣ закваски, при чемъ оно вливалось въ стерилизованное молоко въ отношеніи 1:4—8. Этотъ способъ тоже далъ нѣкоторое ускореніе броженія. Кромѣ того было испробовано сырое молоко, и молоко съ прибавкою молочнаго сахара, но и тутъ алкогольное броженіе было выражено слабо. Добавленіе же въ кипяченое молоко обыкновеннаго кумыса вызывало энергичное броженіе, и черезъ два дня можно было имѣть превосходный пѣнящійся кумысъ.

Заключеніе. И такъ, во всѣхъ моихъ опытахъ съ прививкой микроорганизмовъ кумыса шло энергично лишь молочнокислое броженіе, а спиртовое было выражено очень

¹⁾ Если принять, что 1 к. ц. Феллинговой жидкости разлагаетъ 0,006875 грм. мол. сахара. (см. Орловъ. Къ вопросу о не степномъ кумысѣ и пр. 1890 стр. 11), то % сахара будетъ равнымъ 6,81. Кобылье молоко и кумысъ я получалъ изъ кумыснаго заведенія д-ра Эбермаца—въ Царскомъ Селѣ, черезъ Аптековскую аптеку.

слабо. По вкусу и внешнему виду получавшийся мною напиток имѣлъ лишь слабое сходство съ обыкновеннымъ кумысомъ.

Вопросъ о кумысномъ броженіи не является исчерпаннымъ моею попыткой разрѣшить его, и я считаю, что мой настоящій трудъ можетъ послужить лишь матеріаломъ для дальнѣйшаго изслѣдованія въ этомъ направленіи. Здѣсь же позволю себѣ высказать предположеніе, что, если не будетъ открыто ошибокъ и недочетовъ въ моихъ опытахъ, то нужно будетъ приписать ихъ слабый результатъ или тому, что микроорганизмы ¹⁾ быстро утрачиваютъ нѣкоторыя свои свойства при культивированіи въ искусственныхъ питательныхъ средахъ, или что броженіе (по крайней мѣрѣ спиртовое) въ значительной степени зависитъ отъ энзимъ, которые могутъ вырабатываться при ростѣ микроорганизмовъ въ кобыльемъ молокѣ и при обычномъ способѣ закваски старымъ кумысомъ вводятся въ большемъ количествѣ, чѣмъ при посѣвѣ изъ чистыхъ культуръ. Заканчивая свою работу, я сдѣлаю нѣкоторые выводы о самомъ процессѣ кумыснаго броженія.

Броженіе начинается съ дѣятельности *B. ac. lactici*, которая въ молодыхъ сортахъ кумыса встрѣчается въ большемъ количествѣ, чѣмъ въ старыхъ.

Извѣстно, что кислота, доходя до нѣкотораго предѣла, является задерживающимъ моментомъ для развитія этой бактеріи. Кислая реакція является благоприятной для *saccharomyces*, а въ особенности, для кумысной палочки; для большинства же другихъ микроорганизмовъ она прямо губительна ²⁾.

¹⁾ Микроорганизмы брались изъ культуръ различной давности отъ 4—5 дней и до нѣсколькихъ недель.

²⁾ Годуновъ доказалъ это своими опытами (см. выше).—При фабрикаціи

Черезъ 3—5 часовъ ¹⁾ начинается спиртовое броженіе, т. е. обусловленное дѣятельностью дрожжевыхъ грибовъ. Когда же развилась кислая реакція и наступилъ анаэробіозъ (благодаря CO_2), тогда кумысная палочка попадаетъ въ наилучшія условия для своего произростанія и доканчивается работу, начатую первыми двумя грибами.

Въ тоже время дѣятельность и количество послѣднихъ уменьшаются ²⁾.

Выдѣленіе со дна, куда осѣдаютъ грибки, и постоянное всплываніе вверхъ пузырьковъ CO_2 вызываетъ безпрерывные токи въ бродящемъ кумысѣ, которые заставляютъ циркулировать и самихъ бактерій по всему пространству, благодаря чему происходитъ полная утилизація питательнаго матеріала. (Этимъ объясняется важность выбалтыванія въ первомъ періодѣ, т. е. когда спиртовое броженіе еще слабо). Хотя изъ опытовъ моихъ и слѣдуетъ, что каждый изъ трехъ кумысныхъ микроорганизмовъ можетъ вызывать и спиртовое и молочно-кислое броженіе, однако я склоненъ думать, что эта всесторонняя способность проявляется ими лишь въ томъ случаѣ, когда эти организмы развиваются не въ смѣси, а отдѣльно въ чистыхъ культурахъ; при совмѣстномъ же дѣйствіи всѣхъ

спирта въ бродильной жидкости умышленно вызывать молочно-кислое броженіе съ цѣлью воспрепятствовать развитію другихъ вредныхъ организмовъ, въ особенности бактерій гниенія. (См. объ этомъ въ Centralblatt. f. Bakteriol. 1892. Bd. XII s. 334).—Въ моихъ опытахъ сырое кобылье молоко также не загнивало въ теченіи 8 дней подъ влияніемъ микроорганизмовъ кумыса (Наблюденіе происходило при обыкн.).³⁾ и прекращено независимо отъ состоянія молока.

¹⁾ См. Eulenb.—Афанасьевъ. Реальная Энцикл. медиц. наукъ 1893 г. стр. 704.

²⁾ Иногда для прививокъ приходится брать очень большія количества всѣхъ трехъ грибовъ, и по возможности въ равномъ количествѣ. Однако при анализѣ я каждый разъ убѣждался, что отношеніе между ними намѣнялось и подходило къ кумысному, т. е. 2—5 *B. acidi lactici* и столько же *saccharomyces*, на 100 кумысныхъ палочекъ (приблизительно).

трех видов дѣятельность ихъ, всего вѣроятнѣе, происходить такъ, какъ только что описано.

На основаніи произведенныхъ мною наблюденій, а также изученія бактериологій кумыса, я могу вывести слѣдующія заключенія:

1) Кумысная палочка есть самостоятельный микроорганизмъ (а не вегетативная форма *b. ac. lactici*), легко различаемый по характернымъ колоніямъ, въ особенности на желатинѣ.

2) Кумысная палочка есть истинный, но не вполне строгій анаэробъ.

3) Она легко окрашивается анилиновыми красками и по методу Gram'a.

4) Растетъ лучше на кислыхъ средахъ, чѣмъ на нейтральныхъ и щелочныхъ.

5) Температурный оптимумъ между 20° и 30° C; легко выдерживаетъ температуру таянія льда; погибаетъ отъ получасового дѣйствія температуры въ 57° C.

6) Она споръ не образуетъ и размножается дѣленіемъ.

7) Обладаетъ самостоятельной подвижностью ¹⁾.

8) До сихъ поръ найдена только въ кумысѣ.

9) Способна разлагать молочный сахаръ, вызывая какъ спиртовое, такъ и молочно-кислое броженіе.

10) Способна пептонизировать бѣлки. Коровье молоко

¹⁾ *Примѣчаніе.* Уже во время печатанія настоящей работы я сдѣлалъ еще нѣсколько наблюденій для рѣшенія вопроса о самопроизвольной подвижности кумысной палочки. Непосредственно въ кумысѣ при условіяхъ доступа свободнаго кислорода, а также и въ отсутствіи кислорода, по методу Инкифорова (*Zeitschr. f. Hyg.* Bd. 8. 1890) самопроизвольной подвижности палочки и въ этотъ разъ не замѣтилъ. Въ бульонѣ же (кисломъ) и при доступѣ свободнаго кислорода наблюдать довольно энергичное самопроизвольное движеніе палочекъ, въ особенности короткихъ (была взята чистая культура палочки изъ желатинѣ); движеніе совершалось, по преимуществу, на одномъ мѣстѣ и состояло изъ изгибавъ, качаній и различныхъ поворотахъ палочекъ.

свертываетъ при повышенной t^0 , а при обыкновенной не свертываетъ (наблюденіе длилось 18 дней).

11) *Saccharomyces* кумыса не есть *saccharomyces cerevisiae*; возможно, что существуетъ особый видъ *saccharomyces* кумыса; подобно такъ называемому «*Saccharomyces Keryg*» Вeyerinck'a; по моимъ опытамъ, *saccharomyces*, кромѣ спиртоваго броженія, можетъ вызывать и молочно-кислое, а также образованіе пептона.

12) Кумысная палочка есть главный бродильный грибокъ кумыса, однако проявляющій свою дѣятельность послѣ того, какъ благоприятныя для его развитія условія подготовлены дѣятельностью *b. acidi lactici* и *saccharomyces*.

Настоящая работа произведена въ лабораторіи при Академической терапевтической клиникѣ профессора С. С. Боткина. Приношу здѣсь многоуважаемому профессору мою глубокую благодарность какъ за разрѣшеніе работать въ его лабораторіи, такъ за предложенную тему и руководство при выполненіи работъ.

Ассистенту клиники Н. Н. Кирикову считаю приятнымъ долгомъ выразить мою искреннюю признательность за многія полезныя указанія и совѣты.

Приложеннымъ къ работѣ микрофотографическимъ рисункомъ я обязанъ любезности ассистента при кафедрѣ ботаники В. К. Варлиха, который выполнилъ микрофотограмму къ нему безвозвратно.

ПОЛОЖЕНІЯ.

- 1) Слишком удобоваримая пища, употребляемая постоянно, может ослабить пищеварительную способность желудка.
- 2) Дезинфицирующее дѣйствіе вяжущихъ должно быть отнесено на счетъ отнятія питательнаго матеріала у микробовъ.
- 3) Частое смазываніе *Ol. terebinth* при рождѣ можетъ нерѣдко кушировать процессъ.
- 4) Байтоновское обвиваніе при леченіи каллѣзныхъ язвъ пользуется меньшимъ вниманіемъ, чѣмъ оно заслуживаетъ.
- 5) Кислое питье, даваемое при лихорадочныхъ инфекціонныхъ заболѣваніяхъ, несомнѣнно играетъ роль также и паразитоубивающую.
- 6) Предохраненіе кумыса отъ поселенія въ немъ прочихъ микроорганизмовъ (не бродильныхъ) зависитъ, главнымъ образомъ, отъ дѣйствія молочной кислоты.
- 7) На молочную кислоту должно быть обращено большее терапевтическое вниманіе въ виду ея дезинфицирующихъ свойствъ.

Curriculum vitae.

Дмитрій Павлович Шипинъ, Православнаго вѣроисповѣданія, уроженецъ Ярославской губерніи. Гимназическое образованіе получилъ въ Ярославской гимназіи, по окончаніи курса наукъ въ которой, въ 1881 году, поступилъ на медицинскій факультетъ Императорскаго Московскаго Университета. Прослушавъ 2 курса въ означенномъ Университетѣ, перешелъ въ 1883 году на 3-й курсъ Императорской Военно-Медицинской Академіи, гдѣ и окончилъ курсъ наукъ въ 1887 году. За неимѣніемъ штатныхъ мѣстъ былъ прикомандированъ къ Виленскому Военному госпиталю для несенія ординаторскихъ обязанностей. Черезъ 4 мѣсяца былъ назначенъ младшимъ врачомъ въ 116 пѣх. Малоярославскій полкъ. Въ томъ же году (1888) былъ прикомандированъ къ Рижскому Военному Госпиталю для несенія ординаторскихъ обязанностей, гдѣ и оставался въ теченіе 1½ года. Два раза былъ командированъ на борьбу съ холерной эпидеміей: въ 1891 г. на Курско-Харьково-Азовскую ж. дорогу, а въ 1892 г. въ Кубанскую область. Въ 1895 г. назначенъ младшимъ врачомъ 5-й конно-артиллерійской батареи. Въ 1897 г. прикомандированъ къ Императорской Военно-Медицинской Академіи для усовершенствованія въ наукахъ. По сдачѣ докторскихъ экзаменовъ, представляетъ настоящую работу, подъ заглавіемъ «Къ бактериологіи кумыса», для соисканія ученой степени доктора медицины.



Рис. I.

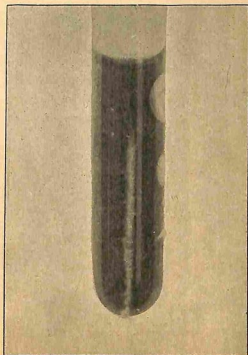


Рис. II.

Объясненіе рисунковъ.

Рис. I. Чистая разводка кумысной палочки. Желатина. Окрашено карболовымъ фуксиномъ (раств. Целя). 1000:1.

Снято при помощи: Achromat Zeiss—30 mm. : n. Ap. 1,30; Compensations-Ocular 12. (Увеличеніе на фотографмѣ приблиз. 1000:1).

Рис. II. Уколочная 27-ми дневная разводка кумысной палочки въ желатинѣ. Комнатная t° . 1:1.