

V.

Къ методамъ выращиванія гонококковъ Neisser'a ¹⁾.

Л. А. Орловскаго.

(Изъ Киевской Акушерской клиники).

М.м. Г.г.! Въ прошломъ засѣданіи я имѣлъ честь демонстрировать многоуважаемому обществу чистыя культуры гонококковъ, выращенныя на средѣ, предложенной *Steinshneider*'омъ въ *Franzensbad*'ѣ, а здѣсь въ *Кіевѣ* взятой мною, по предложенію многоуважаемаго проф. *Г. Е. Рейна*. Кромѣ самихъ разводовъ демонстрировались также микроскопическіе препараты чистой культуры и трипернаго гноя.

Въ настоящемъ засѣданіи, для ясности излагаемаго, я позволю себѣ еще разъ показать разводки гонококковъ, какъ прежде полученные, такъ и свѣжія.

Гоноройныя заболѣванія, какъ извѣстно, имѣютъ обширную область распространенія среди человѣческихъ страданій вообще, а въ области гинекологіи особенно. Я не буду приводить крайне мрачнаго взгляда *Noeggeratt*'а; съ нимъ можно не согласиться, но несомнѣнно, что гонококкъ, будучи занесенъ во влагалище, или въ шейку матки распространяется дальше въ полость матки, въ трубы, черезъ стѣнку послѣднихъ проникаетъ въ брюшную полость, на яичники,—и мы имѣемъ цѣлый рядъ послѣдовательныхъ заболѣваній у женщинъ, всю тяжелую картину женскаго перелоя, всѣ симптомы «восходящаго

¹⁾ См. Протоколь № 82.

перелоя» urethritis, urethrocystitis, vulvitis, colpitis, Bartolini-tis, metritis acuta, endometritis acuta, salpingitis, oophoritis chronica, perimetritis. Гонококкъ же есть довольно частая причина бесплодія. «Трипперъ, говоритъ *IIIредеръ*, приноситъ женщинѣ безконечно больше зла, чѣмъ сифилисъ».

Мнѣ кажется, что точный діагнозъ гонорейнаго заболѣванія можно поставить во многихъ случаяхъ только при помощи бактериологическаго метода изслѣдованія. Я позволю себѣ привести мнѣніе *Berg'a* и *Jadasson'a* (Monatshefte f. prakt. Derm. Bd. XXI, № 8, рефериров. въ Centralblatt f. Ch. № 51 1895 г.) о значеніи клиническихъ симптомовъ гонорреи: «субъективные симптомы, а также описанныя *Sänger'омъ* «macula gonorrhoeica» могутъ отсутствовать. Послѣдній симптомъ не имѣетъ никакого діагностическаго значенія». *J. Neuberger* въ статьѣ «Ueber Analgonorrhoea» (Arch. f. Derm. Bd. XXIX Hf. 3, реф. ibidem) приводитъ 5 случаевъ изъ клиники *Neisser'a*, гдѣ для діагноза необходимо было микроскопо-бактеріологическое изслѣдованіе,—и только такимъ путемъ опредѣлился характеръ язвъ. *M. Kopylowski* (Arch. f. Derm. und S. Bd. XXXII, реф. ibidem) говоритъ, что всякій изслѣдующій проституттокъ приходитъ къ заключенію, что одного клиническаго изслѣдованія гонорреи у женщинъ недостаточно; поэтому онъ замѣчаетъ, что пока гинекологи (онъ самъ сифилидологъ) не убѣдились въ этомъ, слѣдуетъ сообщать результаты микроскопическихъ изслѣдованій. Авторъ изслѣдовалъ 163 проститутки, которыя при выпискѣ ихъ изъ больницы клинически были вполне здоровы. Онъ произвелъ лишь однократное изслѣдованіе и при этомъ нашель, что изъ 92 съ клинической діагностикой гонорреи у 9 (9,8%) и изъ 71 безъ діагностики гонорреи у 5 (7%) имѣлись гонококки *Neisser'a*.

Недостаточность одного микроскопическаго изслѣдованія будетъ видна изъ случая *Kiefer'a*, гдѣ при экстирпаціи мѣшка Фаллопиевой трубы, съ гнойнымъ содержимымъ, микроскопическое изслѣдованіе гноя со стороны маточнаго конца показало присутствіе гонококковъ, а со стороны брюшнаго конца отсутствіе таковыхъ. Тогда былъ сдѣланъ посѣвъ, и на слѣдующій день получился ростъ гонококковъ. Затѣмъ онъ же приводитъ еще 6 случаевъ (2—скопленія гноя въ трубахъ, 1—старого

периметрическаго абсцесса и 3—абсцесса яичниковъ), гдѣ микроскопически были найдены гонококки, а между тѣмъ этой былъ стерилень, такъ какъ эти гонококки были мертвы; они погибли отъ ретропродукціи; въ этомъ случаѣ отвѣтъ могъ дать только посѣвъ, который и далъ отрицательные результаты.

Бактеріологическое изслѣдованіе гонорреи въ послѣднее время сдѣлалось предметомъ специальныхъ работъ *Wertheim'a*, *Bumm'a*, *Finger'a*, *Touton'a*, *Jadassohn'a*, *Gyon'a*, *Schlagenhaüfer'a*, *Steinschneider'a*, *Schäffer'a* и многихъ другихъ и, наконецъ, сюда же принадлежитъ новѣйшая работа *Kiefer'a*, помѣщенная въ юбилейномъ изданіи въ честь *Martin'a* (въ приложеніи къ *Monatsschrift f. Geburtshülfe und Gynaekologie*).

Трудность культивировки.— *Френкель*, въ виду того, что гонококки растутъ исключительно на человѣческой кровяной сывороткѣ, предложенной *Bumm'омъ*, говорить: «развести гонококковъ внѣ человѣческаго тѣла очень трудно». А между тѣмъ, чтобы сдѣлать бактеріологическій методъ доступнымъ клиникѣ, необходимо упростить технику выдѣленія чистыхъ культуръ и найти болѣе легко добываемую среду. И вотъ, въ послѣднее время предложены другія питательныя среды: смѣсь А—А и кровяной сыворотки *Wertheim'омъ*, мочевою А—А—*Finger'омъ*, *Gyon'омъ* и *Schlagenhaüfer'омъ*, глицериновый—М—П—А+асцитическая жидкость *Kiefer'омъ*, смѣсь МПА и жидкости изъ *hydrocele* и кисты—*Steinschneider'омъ* и *Schäffer'омъ*. Къ оцѣнкѣ этихъ средъ я перейду еще въ специальной части.

И такъ, принимая во вниманіе обширность распространенія гонорейныхъ заболѣваній, невозможность постановки во многихъ случаяхъ точной діагностики путемъ лишь клиническимъ и возрастающій интересъ среди гинекологовъ къ изученію гонорреи путемъ бактеріологическаго изслѣдованія, я считаю себя вправѣ занять вниманіе многоуважаемаго общества скромной демонстраціей гонококковыхъ культуръ и микроскопическихъ препаратовъ.

Въ 1879 году *Neisser*, а затѣмъ въ 1880 г. *Bokai* описали въ триперномъ гною особый видъ микрококка, который съ тѣхъ поръ и извѣстенъ подъ именемъ гонококка *Neisser'a*.

Gonococcus въ морфологическомъ отношеніи диплококкъ, т. е. микробъ, который вслѣдствіе особенности дѣленія всегда располагается попарно, причемъ элементы каждой пары не соприкасаются другъ съ другомъ, но раздѣлены небольшимъ пространствомъ; обращенныя другъ къ другу поверхности нѣсколько вогнуты, такъ что пара такихъ кокковъ имѣетъ видъ накладной булки (*Semmelform*). Величина ихъ 0,4—0,8 п. Окрашиваются легко всѣми основными анилиновыми красками. По способу *Gramm*'а не окрашиваются. Патогномоничнымъ для доказательства присутствія гонококковъ считается вѣдреніе ихъ въ гнойныя тѣльца отдѣляемаго, т. е. они должны всегда лежать въ протоплазмѣ гнойныхъ клѣтокъ, и нерѣдко тѣло послѣднихъ бываетъ такъ набито гонококками, что остается свободнымъ только ядро. Это доказывается тѣмъ, что при данной установкѣ микроскопа кучки кокковъ и ядра выступаютъ одинаково ясно и кучки никогда не выдаются за край протоплазмы. И такъ, для признанія гонококка подъ микроскопомъ намъ помогаютъ 1) форма—бобы кофе, расположенные по два, 2) расположеніе—всегда внутри клѣтокъ, 3) группировка—никогда не образуютъ цѣпей, а—въ видѣ кучекъ, 4) окрашиваніе всѣми анилиновыми красками и обезцвѣчиваніе по *Gramm*'у. Последнее важно для дифференціальной діагностики, на что еще въ 1886-омъ году указалъ *Roux*, а въ 1887 г. *Allen*, и по вычисленію *Finger*'а, *Steinschneider*'а и *Галескаго* въ 95,35% оно даетъ точные результаты.

Культивировка гонококковъ считалась сначала возможной только на человѣческой кровяной сывороткѣ, но затѣмъ *Wertheim*'омъ была предложена смѣсь изъ 2 ч. А—А и 1 ч. кровяной сыворотки, а *Finger*'омъ, *Gyon*'омъ и *Schlagenhäufer*'омъ мочевою А—А. (2 ч. А—А и 1 ч. фильтрованной мочи). Въ виду легкости добыванія послѣдней, она была провѣрена цѣлымъ рядомъ изслѣдователей, но положительный результатъ получался не всегда. У меня не получился ростъ; вѣроятно отъ того, что отдѣляемое было взято у субъекта уже 2 мѣсяца лежащаго въ госпиталѣ. У д-ра *Любинскаго* года два т. н. получился положительный результатъ. Затѣмъ *Kiefer*, основываясь на томъ, что каждый гонорройный процессъ сопровож-

дается образованіемъ воспалительнаго серознаго эксудата, предложилъ жидкость изъ Hydrothorax'a и Ascites'a въ смѣси съ $3\frac{1}{2}\%$ А—А, 5% пептона, 2% глицер. и 0,5% поваренной соли. Наконецъ *Steinschneider* и *Schäffer* предложили смѣсь изъ 2 ч. МП.А.—А 2% и жидкости изъ hydrocele или кисты яичника. Последняя среда была взята и нами при своихъ первыхъ опытахъ, причемъ чистая культура была первоначально выдѣлена д-ромъ *Любинскимъ* въ лабораторіи проф. *А. Д. Павловскаго*, гдѣ и произведена настоящая работа, за что выражаю глубокую признательность многоуважаемому проф. *Александру Дмитриевичу Павловскому*. Способъ приготовления этихъ средъ очень несложенъ. Приготавливаются обычнымъ путемъ МПАА 2%, разливается въ пробирки и стерилизуется въ автоклавѣ при давленіи двухъ атмосферъ. Это одна составная часть. Другая—кистовая жидкость; она собирается въ стерильную посуду во время операции оваріотоміи, и затѣмъ ее можно употреблять въ трехъ модификаціяхъ: или непосредственно разливать въ пробирки для употребленія, такъ какъ собранная въ нашей клиникѣ, гдѣ операции ведутся асептично, она оказывается стерильной; или же фильтровать чрезъ свѣчу *Pasteur-Chamberland*'а, или же подвергать ее дробному обезпложиванію при t^0 55°, около 3-хъ часовъ каждый разъ въ теченіе 6 дней; или же, наконецъ, ее можно подвергать свертыванію.

Смѣсь составляется такимъ образомъ, что къ 2-мъ частямъ жидкаго А—А (около 40—45°) приливается 1 ч. жидкости изъ кисты, и затѣмъ смѣсь для приготовления пластинчатой культуры быстро выливается въ чашку *Petri*. Реакція можетъ быть слабо-кислой, нейтральной и слабо-щелочной. Приготовленная смѣсь выдерживается сутки въ термостатѣ, и затѣмъ на ней дѣлается посѣвъ. Въ послѣднихъ опытахъ я измѣнилъ составъ одной части питательной среды, а именно—я употребилъ смѣсь 5% А—А, 5% пепт. $3\frac{1}{2}\%$ глицерина и 0,5% NaCl. Благодаря тому, что я беру 5% А—А, можно совершенно свободно прибавлять 2-ой части смѣси (жидкости изъ кисты) въ объемъ половинномъ и болѣе, отчего увеличивается питательность среды—а это совершенно невозможно при 2% А—А.

Для изолированія гонококковыхъ культуръ примѣнялся способъ *Steinschneider'a* и *Schäffer'a*—кисточный способъ.—Онъ состоитъ въ томъ, что гной переносился простерилизованными обыкновенными кисточками (или асбестовой, такъ какъ ее можно прожигать на пламени) на пластинчатую культуру и размазывался на разныхъ мѣстахъ. Черезъ 24 часа мы получимъ ростъ какъ гонококковыхъ, такъ и другихъ кокковъ; для полученія чистой культуры дѣлается пересѣвъ уже въ пробирку. Питательная среда таже.

Видъ гонококковыхъ культуръ довольно характеренъ. Онѣ растутъ въ видѣ тонкаго нѣжнаго точечнаго налета съ рѣзкими зубчатыми краями, причемъ свѣжія культуры всегда сѣраго цвѣта, старыя же бѣловатаго. На жидкой средѣ, куда также входитъ жидкость изъ кисты, онѣ растутъ въ видѣ нѣжныхъ опаловаго цвѣта пленокъ. Жизнеспособность гонококковъ въ одной и той же средѣ сохраняется лишь очень короткое время, до 3-хъ дней, и, чтобы поддерживать культуры, ихъ необходимо пересѣвать ежедневно, такъ какъ уже на 3-й день 80% гонококковъ представляются набухшими и слабо-окрашенными, а черезъ 8 дней окончательно теряется жизнеспособность, и пересѣвъ не удастся. Ростъ лучше всего наблюдается при t^0 36—37°; при комнатной t^0 въ продолженіи 2-хъ дней гонококки не убиваются, но ростъ задерживается, такъ что если послѣ ихъ помѣстить при t^0 37°, то ростъ возобновляется лишь черезъ 48 часовъ.

Подводя итогъ сказанному, мы видимъ что бактериологическое изслѣдованіе на гонококковъ, съ изложенными методами, дѣлается достояніемъ клиническаго изслѣдованія, такъ какъ поставленныя для этого въ началѣ требованія—простота техники и удобная питательная среда—вполнѣ удовлетворяются. Техника состоитъ въ простомъ многократномъ намазываніи на пластинчатой культурѣ стерильной кисточкой, а среда—жидкость изъ кисты очень подходяща для гонококковъ, а добывать ее въ университетскомъ городѣ съ гинекологической клиникой, мнѣ кажется, всегда представится возможнымъ.