

Н. В. КАГАН

О ВЛИЯНИИ БАКТЕРИОФАГА НА ФАГОЦИТОЗ

(Представлено академиком А. А. Богомольцем 2 III 1938)

В настоящее время хорошо известно, что механизм воздействия бактериофага на микробов чрезвычайно сложен и отнюдь не ограничивается простым растворением последних.

При введении бактериофага в организм животного имеет место взаимодействие ряда факторов, а именно: 1) фагоцитирование самого бактериофага лейкоцитами, на что указывал в своих работах еще д'Эрелль, 2) выведение бактериофага из организма, 3) возникновение резистентных рас микробов, 4) изменение отношения микробов к защитным силам организма. В литературе имеются указания, что микробы, обработанные бактериофагом, иначе фагоцитируются и агглютинируются, чем исходные нормальные культуры.

Так, Нельсон показал, что введение кролику в вену бактериофага повышало опсонизацию гомологичных культур, чувствительных к данному фагу, но не резистентных. Опыты того же автора, поставленные *in vitro*, показали, что микробы, обработанные бактериофагом, фагоцитируются активнее, нежели контрольные, необработанные культуры. Смит обрабатывал *in vitro* чувствительные к бактериофагу культуры стафилококка гомологичным бактериофагом и получал при этом резкое повышение фагоцитабельности культур. При обработке бактериофагом резистентных культур фагоцитируемость последних оставалась без изменений. Годер провел сравнительное изучение фагоцитабельности чувствительных и резистентных культур кишечной палочки, стафилококка, палочек брюшного тифа и др. Ему удавалось получать резистентные варианты, которые обладали несколько большей фагоцитабельностью, нежели исходные чувствительные культуры. Наоборот, Гос совместно с Якобсоном показал, что резистентные варианты фагоцитируются хуже, чем исходные чувствительные культуры.

Таким образом уже на основании этих довольно ограниченных литературных данных можно сделать вывод, что бактериофаг способен как-то изменять свойства микробных клеток, делая их более доступными фагоцитозу.

Однако в виду того, что вопросы эти все же не получили в литературе достаточного освещения, а имеющиеся данные носят несколько противоречивый характер, мной было предпринято детальное изучение вопроса о влиянии бактериофага на фагоцитабельность микробов.

Работа выполнялась с культурами кишечной палочки и стафилококка и гомологичными бактериофагами. Бактериофаг кишечной палочки, титр

10⁻⁹, был мной получен от д-ра М. И. Гольдина (Микробиологический институт Академии Наук СССР), стафилококковый бактериофаг № 1, титр 10⁻⁶, вместе с чувствительной культурой—от проф. В. А. Крестовниковой и стафилококковый бактериофаг № 2 вместе с чувствительной культурой—от проф. М. А. Морозова.

Методика. К 1.0 густой эмульсии микробов (штандарт 12—40 млрд.) добавлялись различные количества бактериофага, неразведенного или разведенного. Общее количество жидкости в пробирке доводилось при помощи бульона до 5.0. В контрольные пробирки к 1.0 эмульсии добавлялось 4.0 бульона. При этих условиях концентрация микробов в пробирке была настолько высока, что лизис микробов уже отсутствовал, а имела место только адсорбция бактериофага микробами. После пребывания пробирок в термостате в течение 1—6 час. содержимое пробирок подвергалось центрифугированию и отмыванию физиологическим раствором от остатков свободного бактериофага.

В ряде опытов после стояния пробирок в течение нескольких часов при 37° их помещали еще на ночь на ледник и только после этого подвергали центрифугированию. Из полученных таким образом осадков готовились разведенные эмульсии (штандарт 2 млрд.). Далее смешивались равные количества каждой эмульсии и взвеси лейкоцитов морской свинки. После пребывания смеси в термостате в течение 45 мин.—1 часа готовились мазки, и производился подсчет фагоцитарного числа*. Опсонический индекс вычислялся путем деления фагоцитарного числа, полученного в опыте с обработанной бактериофагом культурой на фагоцитарное число контроля. Однако при такой постановке опытов бактериофаг не оказывал влияния на фагоцитоз.

Все вышеизложенные опыты были поставлены с лейкоцитами морской свинки. Для того чтобы исключить влияние видового момента, в дальнейшем мной были поставлены опыты, для которых я пользовалась исключительно лейкоцитами человека.

Методика этих опытов не отличалась от описанной выше.

Опыт фагоцитоза ставился таким образом, что равные количества разведенной эмульсии и лейкоцитов смешивались в агглютинационных пробирках, и последние помещались на 10 мин. на водяную баню при 40°C, после чего готовились мазки. Фиксация метиловым спиртом; окраска по Гимза или синькой Мансона. Подсчитывалось по 200 клеток в мазке.

На таблице суммированы результаты всех опытов, поставленных с культурами кишечной палочки и стафилококка. Мы видим, что контакт кишечной палочки с бактериофагом в течение одного часа не изменил их фагоцитабельности, так как опсонический индекс во всех опытах оказался близким к единице. Там, где продолжительность контакта была удлинена до 4 час., уже наблюдается отчетливое повышение фагоцитоза. В среднем в этой группе опытов опсонический индекс повышен на 60%, причем какого-либо влияния на результат опыта количества добавленного бактериофага не отмечается. При увеличении продолжительности контакта (4 часа при 37° и ночь на леднике) в части опытов индекс оказывается близким к единице, а в четырех опытах мы имеем даже значительное снижение индекса. В среднем все же в этой группе опытов опсонический индекс равен 0.87—0.91.

Опыты с культурами стафилококка № 1 показали, что при контакте бактериофага с микробами в течение одного часа отчетливо выявлено повышение индекса в той серии опытов, где добавлялось по 0.5 бактериофага (в среднем на 79%). В опытах, где было добавлено по 4.0 бактерио-

* В каждом мазке подсчитывалось 200 клеток.

Продолжительность и температура контакта

Название культуры	Доза бактериофага	1 час при 37°			4 часа при 37°			4 часа при 37° и ночь на леднике			24 часа при 37°		
		Количество	Средний опсонический индекс	Среднее повышение индекса в %	Количество	Средний опсонический индекс	Среднее повышение индекса в %	Количество	Средний опсонический индекс	Среднее повышение индекса в %	Количество	Средний опсонический индекс	Среднее повышение индекса в %
Кишечная палочка	Живая культура	3	1.01	—	4	1.61	61	5	0.91	—	—	—	
		3	1.0	—	4	1.6	60	3	0.87	—	—	—	
Стафилококк № 1	Живая культура	3	1.79	79	6	1.5	50	4	1.4	40	—	—	
		4	0.93	—	5	1.67	67	4	1.38	38	—	—	
	Убитая культура	—	—	—	5	1.57	57	2	1.57	57	—	—	
		—	—	—	5	1.55	55	2	1.63	63	1	1.7	
Стафилококк № 2	Живая культура	1	1.0	—	3	—	—	—	—	—	—	—	
		1	1.0	—	3	—	—	—	—	—	—	—	

фага, индекс колеблется в пределах единицы. В тех опытах, где контакт микробов с бактериофагом длился 4 часа, в 2 опытах из 11 индекс оказался близким к единице; во всех остальных опытах он значительно выше, причем это увеличение достигает 100% и даже 130%. Некоторое, хотя и меньшее, повышение индекса наблюдается также в той группе опытов, где после пребывания пробирок при 37° в течение 4 час. они оставались еще на ночь на леднике. В среднем в этой серии опытов повышение опсонического индекса составляет 40%.

Перехожу к изложению опытов, поставленных с убитыми культурами стафилококка № 1. Убивание культур производилось формалином (накапывание на ватную пробку). В остальном методика этих опытов не отли-

чалась от изложенной выше. Как видно из этой таблицы, убитые микробы, адсорбировавшие бактериофаг, также становились доступнее фагоцитозу. Из 15 опытов этой серии только в 3 нет повышения опсонического индекса. Во всех остальных опытах опсонический индекс повышен и кое-где даже весьма значительно (до 190%). В среднем в этой группе опытов наблюдается повышение индекса на 55—63%, т. е. примерно такое же, как и в опытах с живыми культурами.

Далее в той же таблице отражены результаты опытов с культурой стафилококков № 2. Всего, как видно из таблицы, в различных комбинациях было поставлено 8 опытов; ни в одном не было отмечено повышения опсонического индекса под влиянием обработки микробов бактериофагом, и больше опытов с этой культурой не ставилось.

Было поставлено также несколько опытов по изучению фагоцитабельности четырех резистентных вариантов, полученных из исходной чувствительной культуры стафилококка № 1. Опсонический индекс во всех опытах с этими вариантами оказался близким к единице.

Приведенные данные позволяют сделать заключение, что в результате контакта с бактериофагом микробные клетки могут измениться и стать доступнее фагоцитозу. Однако не все культуры и не все бактериофаги ведут себя в этом отношении одинаково. Так, с культурой кишечной палочки отчетливое повышение опсонического индекса имеет место только в той серии опытов, где продолжительность контакта между микробами и бактериофагом равна 4 час.; там, где контакт длился дольше, опсонический индекс в некоторых опытах оказался даже значительно сниженным.

Обращает на себя внимание то, что в опытах, где продолжительность контакта микробов и бактериофага была выше 4 час. (4 часа при 37° и ночь на леднике в опытах со стафилококком № 1), мы нередко наблюдали снижение индекса. Быть может, этот факт должен найти объяснение в том, что при таком длительном воздействии бактериофага часть чувствительных микробных клеток погибает и происходит отбор резистентных микробов, хуже поддающихся фагоцитозу. А быть может здесь имеет место феномен, аналогичный тем «зонам задержки», которые наблюдаются иногда при серологических реакциях.

Стафилококковый бактериофаг № 1 оказался более активным, нежели бактериофаг. Возможно, что это связано с качественными различиями бактериофагов, их неодинаковым сродством к культурам, как например способностью бактериофага № 1 лизировать культуру сразу и нацело.

В опытах, посвященных изучению фагоцитабельности резистентных к бактериофагу культур стафилококка № 1, не удалось обнаружить какой-либо существенной разницы между этими вариантами и исходной чувствительной культурой. Но для окончательных выводов материал этот требует значительного пополнения.

В ы в о д ы. В опытах *in vitro* при взаимодействии гомологичных бактериофагов с культурами кишечной палочки и стафилококка бактерии приобретают свойство интенсивнее фагоцитироваться. Однако не у всех изученных штаммов это явление бывает выражено одинаково. Оно может совсем отсутствовать у отдельных культур.

Убитые микробы, так же как и живые, под влиянием обработки бактериофагом фагоцитируются лучше, чем исходные необработанные культуры.

Микробиологический институт.
Академия Наук СССР.
Москва.

Поступило
13 IV 1938.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ G o h s u. J a c o b s o n, ZS. f. Immun.forsch., 49, 17, 412 (1926). ² H o d e r, *ibid.*, 84, 1, 46 (1934). ³ N e l s o n, J. Immunology, 15, 1 (1928). ⁴ S m i t h, *ibid.*, 15, 2 (1928).