

МИКРОБИОЛОГИЯ

А. В. РУМЯНЦЕВ, М. К. КРАНТОВСКАЯ, Е. П. САВИЦКАЯ и Б. В. ЖАВ
НАБЛЮДЕНИЯ НАД СТРОЕНИЕМ И ЦИКЛОМ РАЗМНОЖЕНИЯ
RICKETTSIA PROWAZEKI

(Представлено академиком И. И. Шмальгаузенем 20 III 1947)

За последние годы в изучении тончайшего строения типичных риккеттсий достигнуты значительные успехи (¹⁻³) и др.). Особенно интересные результаты получены с помощью электронного микроскопа (^{4, 5}). Однако вопрос о природе зернышек, видимых в протопласте и окрашивающихся подобно хроматину, не получил окончательного разрешения.

Не получили достаточной ясности и проблемы, связанные с циклом размножения риккеттсий, хотя и в этом направлении было опубликовано не мало интересных работ (^{2, 3, 6}) и др.).

Приступая к нашим исследованиям, мы прежде всего поставили перед собой следующие вопросы: имеют ли риккеттсии Провачека один типичный цикл размножения или же циклы могут быть различны в зависимости от хозяина. Какова природа хроматиноподобных зерен, описываемых в протопласте, начиная с работ Риккеттса и Вольбаха с сотрудниками (⁷⁻⁹), и каково отношение их к циклу размножения? Последний вопрос, интересовавший нас, это состояние и строение всего протопласта риккеттсий в целом.

Объектом нашего исследования мы выбрали *Rickettsia prowazeki*. Мы изучали развитие этой формы: 1) в легких мышей при интраназальном заражении последних; 2) в кишечнике платяных вшей, зараженных методом инокуляции через анальное отверстие. Кроме того, в нашем распоряжении были мазки из *tunica vaginalis* морских свинок, мазки из перикарда тех же животных, и, наконец, чистые взвеси отмытых риккеттсий, употребляемых для приготовления вакцины.

Во всех наших исследованиях мы пользовались хорошо адаптированным к мышам штаммом В. Изучение материала, полученного от мышей и вшей, производилось на мазках и срезах после различных фиксаций и окрасок. Лучшие результаты мы получили после окраски по методу Фельгена с последующей докраской светлой зеленью (lightgreen), а также после окраски по Гимза, с предварительным гидролизом препаратов в слабой HCl. Впрочем, на мазках и классический метод окраски по Гимза давал отличные результаты.

Результаты наших исследований таковы:

1. Как известно, *R. prowazeki* характеризуется большим полиморфизмом. Описываются формы, начиная с зернышек, стоящих на границе видимости современных микроскопов, и кончая довольно крупными палочками, достигающими нескольких микрон длиной.

Постоянно наблюдаются кокковидные парные экземпляры, а также цепочки, состоящие из коккобациллярных форм. Просмотр большого количества материала позволил нам прийти к следующему выводу. На срезах полиморфизм риккеттсий всегда выражен меньше, чем на

мазках. На срезах большой полиморфностью отличаются риккеттсии, находимые в тканях вне клеток или в клетках распадающихся. То же самое явление можно отметить и на мазках из *tunica vaginalis*.

2. Можно установить некоторое различие в смене форм при развитии инфекции в легком мышей и в кишечнике вшей. В легком мышей основными формами, начиная с начальных стадий развития инфекции и кончая последними (с очагами уплотнения в отдельных дольках или по всему легкому), можно считать кокковидные и коккобациллярные формы. Длинных палочковидных риккеттсий нам никогда не приходилось наблюдать, а цепные формы встречались крайне редко. В кишечнике вшей риккеттсии в первые дни заражения бывают очень часто представлены длинными палочковидными формами, которые, однако, в момент максимума инфекции исчезают, заменяясь типичными мелкими кокковидными и коккобациллярными формами.

В материале из кишечника вшей постоянно встречаются цепные формы. Они могут быть прослежены не только в кровяном сгустке, наполняющем кишечник, но и в эпителиальных клетках самой стенки. Иногда на мазках из кишечника вшей попадают коккобациллярные формы слегка изогнутые; подобные формы при окраске их сплошь, например по методу Кастанеда, представляются наблюдателю ланцетовидными.

3. Зернышки в протопласте риккеттсий, окрашивающиеся в цвет окраски ядерного хроматина по Гимза, состоят из нуклеопротеидов, так как они интенсивно окрашиваются по методу Фельгена. Эти зернышки мы считаем ядром риккеттсий, поскольку удается подметить их участие в цикле размножения.

4. Зернышки хроматина у бациллярных форм располагаются в протоплазме, хорошо окрашивающейся светлой зеленью как после смеси азур-эозин, так и после окраски по Фельгену. Узенький ободок протоплазмы вокруг ядра окрашивается и у типичных кокковидных форм. Протоплазма риккеттсий содержит в своем составе жировые вещества. После соответствующих фиксаций риккеттсии окрашиваются достаточно отчетливо суданом III и шарлахротом. Лучше всего эта окраска удавалась нам на мазках из отмытых риккеттсий.

5. В мезенхимных и эпителиальных клетках легкого мышей и в клетках *tunica vaginalis* при условии хорошего размножения риккеттсий встречаются две основные формы: кокковидные и бациллярные. Эти же формы всегда присутствуют и в клетках кишечника вшей спустя несколько дней после заражения.

Кокковидные формы характеризуются одним хроматиновым зернышком (ядром), в то время как бациллярные формы встречаются в нескольких видах. Чаще всего попадают формы с двумя полярно расположенными зернышками, но можно найти риккеттсии и с несколькими хроматиновыми зернышками; наконец, имеются формы с явно диффузным расположением мельчайших зернышек хроматина.

6. Так как удается без труда наметить серию переходов от кокковидных до типичных бациллярных форм и так как последние являются основными во флоридных стадиях развития инфекции как в легких, так и в кишечнике вшей, то они могут считаться основными вегетативными формами хорошо адаптированного штамма В.

Все остальные формы — глыбки, круглячки, парные, двойнички, длинные нитевидные формы и т. д. — очевидно, надо рассматривать как формы инволютивные или отмирающие.

7. Размножение *R. prowazeki* происходит простым бинарным делением; в этом отношении наши наблюдения вполне совпадают с описанием Машковского (*).

Деление риккеттсий начинается с деления ядра, после чего протопласт удлиняется, и разделившиеся половинки ядра расходятся

к полюсам. Появление риккетсий с диффузным распределением хроматина, равно как и образование трех ядер в одном вытянутом протопласте (длинные формы из кишечника вшей), остается пока не выясненным. Очень возможно, что формы с диффузным распределением хроматина могут быть рассматриваемы как одна из стадий цикла. Однако, чтобы окончательно определить значение подобных форм в цикле размножения, нужны дальнейшие исследования. Таким образом, основной цикл, характеризующий нормальное размножение риккетсий как в легком мышей, так и в кишечнике вшей, очень прост и состоит в простом поперечном делении коккобациллярных форм. Длинных циклов, описываемых Сикора (1), нам наблюдать не удалось.

Следует отметить, что иногда на мазках из легкого и в клетках мезенхимного характера (гистциты и моноциты) попадаются тельца типа морул, описанные Баггом и Фультоном (2), Жиру (6) и другими. Это несомненно аглютинированные в протоплазме клеток риккетсии с измененным ядерным аппаратом. Зерна хроматина у таких форм окрашиваются плохо и по Гимза и по Фельгену.

8. Очень трудно установить инициальную форму, проникающую в протоплазму клеток. Эта попытка делается нами в настоящее время в тканевых культурах. Однако косвенные соображения принуждают нас рассматривать кокковидные или маленькие округлые формы как формы инициальные. Они имеют весьма уплотненное хроматиновое ядро и хорошо сохраняются решительно при всех обработках; они хорошо сохраняются и при высушивании и не разрушаются при истирании.

9. Приведенные наблюдения, хорошо совпадающие с данными о химическом составе протопласта риккетсий, полученные Товарницким и Крантовской, приводят нас к заключению, что *R. prowazeki* представляют собою настоящие клетки с обособленным ядром, весьма подобные клеткам многих типичных ядерных бактерий, как они описываются Робиноу (10) и Пешковым (11).

Поэтому у нас больше оснований сближать риккетсии с бактериями, выделяя их в группу внутриклеточных паразитических бактерий. От типичных внеклеточных бактерий они отличаются двумя основными признаками: во-первых, богатством липопротеиновых комплексов в составе протопласта, и во-вторых, отсутствием способности редуцировать нуклеопротеины вне протоплазмы клетки. Является ли это следствием редукции их ферментативного аппарата или же в основе этого явления лежат другие причины — могут показать только дальнейшие исследования.

Поступило
20 III 1947

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ H. Sikora, Z. Hyg. u. Infektionkunde, 124, 250 (1942). ² A. Bagg, F. Fulton et al., J. Path. and Bacteriol., 56, 109 (1944). ³ Т. Машковский, Усп. совр. биол., 19, 1 (1945). ⁴ L. Weiss, J. of Immunol., 47, 353 (1943). ⁵ H. Poltz et al., J. Exp. Med., 77, 355 (1943). ⁶ P. Giroud et R. Panthier, Ann. Inst. Pasteur, 68, 137 (1942). ⁷ S. Wolbach, J. Todd and F. Palfrey, The Etiology and Pathology of the Typhus, Harvard Univer. Press, Cambridge, 1922. ⁸ S. Wolbach, J. med. Res., 38, 35 u. 147 (1916). ⁹ S. Wolbach, J. med. Res., 41, 1 (1919). ¹⁰ C. Robinow, в книге Dubos Rene, The Bacterial Cell, 1945. ¹¹ М. Пешков, Журн. М. Э. И., № 4—5 (1945).