

Р. И. БЕЛКИН

**ВЛИЯНИЕ СТОЛБНЯЧНОГО АНАТОКСИНА
И СТОЛБНЯЧНОГО ТОКСИНА НА АКСОЛОТЛЕЙ**

(Представлено академиком Н. Н. Анчиковым 15 XII 1949)

В предыдущих наших исследованиях (¹, ²) мы установили возможность путем вакцинации убитой культурой *Bacillus septicaemiae ganagum* (BSR) получить стойкий иммунитет к последующему заражению вирулентной культурой BSR. Если же иммунизированных аксолотлей искусственно превратить в амблостом, то приобретенный в личиночной стадии иммунитет утрачивается.

В данной работе мы поставили себе задачей изучить возможность получения у аксолотлей иммунитета к микробным токсинам и избрали для этой цели столбнячный токсин. Судя по имеющейся литературе, подобные исследования еще не производились.

Материал и методика. Для опытов мы пользовались черными аксолотлями в возрасте 8 мес.; все животные для каждого опыта, в том числе и контрольные, были приблизительно одинаковых размеров и веса и в течение всего опыта содержались в одинаковых условиях.

Для иммунизации аксолотлей мы пользовались столбнячным анатоксином ЦИЭМ (серии 310-III, 353-III). Для последующего заражения мы пользовались сухим столбнячным токсином, растворенным в физиологическом растворе (для холоднокровных) в пределах установленной нами 1 или 1,5 минимальных смертельных доз (м. с. д.) (см. описание опытов).

Имунизация аксолотлей столбнячным анатоксином производилась внутрибрюшинно от 3 до 5 раз с интервалами от 6 до 9 дней; количество вводимого анатоксина возрастало от 0,25 до 1,0 см³ в последующих иммунизациях.

Введение аксолотлям столбнячного токсина как для установления м. с. д., так и после предварительной иммунизации производилось обычно в мускулатуру правой задней конечности, а один раз в брюшную полость.

Наблюдения за животными после введения им столбнячного токсина производились ежедневно; обращалось внимание на состояние и подвижность конечностей. Во всех без исключения случаях после введения достаточно высокой дозы столбнячного токсина наблюдались через несколько дней сначала парез, а затем контрактура конечностей, причем сначала поражалась правая задняя конечность (в которую вводился токсин), затем левая задняя; спустя несколько дней те же явления наблюдались на передних конечностях, чаще на обеих одновременно, а иногда сначала на одной и через 1—2 дня на другой. Надо отметить, что парез и контрактура задних конечностей наступали как после введения столбнячного токсина в одну из задних конечностей, так и после

внутрибрюшинного введения токсина. Явления пареза хвоста не всегда были ясно выражены.

Гибель почти всех животных после введения им столбнячного токсина наступала при хорошо выраженных явлениях столбняка как конечностей, так и мышц всего туловища. Если животные погибали не при описанных выше явлениях столбняка, они при подведении итогов опыта не учитывались. При наблюдении животных, которым вводился столбнячный токсин, мы имели возможность судить о ходе опытов не только по срокам гибели животных, но и по срокам нарастания явлений столбняка.

Наши опыты

А. Предварительные опыты. Необходимо было сначала выяснить восприимчивость аксолотлей к столбнячному токсину. После введения $0,5 \text{ см}^3$ столбнячного токсина в разведении 1 : 500 и 1 : 1000 животные, содержащиеся при температуре $20\text{--}22^\circ$, погибли от столбняка через 3—4 дня. Таким образом было установлено, что аксолотли чувствительны к токсину.

Для установления минимальной смертельной дозы мы провели титрование токсина на аксолотлях. В результате было установлено, что $0,005 \text{ см}^3$ столбнячного токсина в разведении 1 : 30 000 на 1 г веса животного является минимальной дозой, приводящей аксолотлей к гибели от столбняка в течение 16—21 дней при содержании при температуре $20\text{--}22^\circ$ при условии введения токсина в правую заднюю конечность. Если же м. с. д. столбнячного токсина вводилась внутрибрюшинно, то смерть от столбняка наступала обычно на 4—5 дней ранее, чем после введения токсина в заднюю конечность. Метод внутрибрюшинного введения столбнячного токсина следует признать менее удобным, ибо нарастание симптомов столбняка идет не так четко, как при внутримышечном введении в конечность.

Б. Зависимость от окружающей температуры. Нами установлено значительное различие в скорости заболевания столбняком у аксолотлей в зависимости от окружающей температуры, а именно:

а) при содержании аксолотлей при температуре $20\text{--}22^\circ$ симптомы столбняка появляются уже через 11—12 дней;

б) при содержании аксолотлей в специально приспособленном холодильном шкафу при температуре $7\text{--}8^\circ$ симптомы столбняка можно было заметить только через 40 дней после введения столбнячного токсина.

Нами установлено также существенное различие в конечном исходе заражения токсином аксолотлей, содержащихся в разных температурных условиях, а именно:

а) при содержании аксолотлей при температуре $20\text{--}22^\circ$ после введения им м. с. д. столбнячного токсина гибель всех животных от столбняка наступала в течение 16—21 дня;

б) при содержании аксолотлей при температуре $7\text{--}8^\circ$ после введения им м. с. д. столбнячного токсина хотя и появлялись симптомы столбняка, однако гибель животных от столбняка не наступала; наблюдения за животными продолжались 152 дня;

в) часть аксолотлей после введения им м. с. д. столбнячного токсина содержалась сначала при температуре $7\text{--}8^\circ$ в течение 18 дней, и никаких симптомов столбняка у них не было обнаружено. Затем, когда животные были перенесены в комнату с температурой $20\text{--}22^\circ$, у них началось быстрое нарастание явлений столбняка, и животные погибли от него на 5-й день после перенесения их в более теплую среду.

Таким образом, нами было установлено, что появление и развитие симптомов столбняка у аксолотлей после введения им одной м. с. д.

столбнячного токсина, а также исход столбнячной интоксикации находятся в зависимости от окружающей температуры; при пониженной температуре надолго замедляется наступление столбняка и предотвращается гибель животных, а при повышенной температуре ускоряется появление симптомов столбняка и гибель животных наступает не позже 5 дней после появления первых симптомов столбняка.

В. Опыты иммунизации аксолотлей столбнячным анатоксином и последующего введения им столбнячного токсина. После установления м. с. д. столбнячного токсина для наших аксолотлей мы приступили к проведению иммунизации их столбнячным анатоксином. В течение всего времени иммунизации аксолотли содержались при температуре 20—22°; мы исходили из предположения, что содержание животных в более теплой комнате будет способствовать выработке иммунитета у наших животных, а пониженная температура окружающей среды может замедлить этот процесс.

В течение 8 мес. проведено было 3 серии опытов; всего иммунизировано было 240 аксолотлей и контролем к ним служили 80 аксолотлей. В первой серии опытов иммунизация производилась введением столбнячного анатоксина 3 раза с промежутками в 6 дней; в последующих двух сериях иммунизация производилась введением анатоксина 5 раз с промежутками в 9 дней. Случаев заболевания и гибели животных от иммунизации не было; питание аксолотлей в период иммунизации не нарушалось.

Таблица 1

Результаты наблюдений за аксолотлями в 3 сериях опытов

Аксолотли	Общее число животных	Число введенных м. с. д. токсина	Сроки появления симптомов столбняка	Сроки наступления гибели от столбняка
Иммунизированные	120	1	На 9-й день у 54 животных » 10-й » » 21 » » 11-й » » 20 » » 12-й » » 10 » » 13-й » » 9 » » 14-й » » 6 »	На 12-й день у 16 животных » 13-й » » 40 » » 14-й » » 27 » » 15-й » » 16 » » 16-й » » 8 » » 17-й » » 8 » » 18-й » » 5 »
Контрольные	40	1	На 11-й день у 4 животных » 12-й » » 7 » » 13-й » » 19 » » 15-й » » 6 » » 16-й » » 4 »	На 16-й день у 2 животных » 17-й » » 6 » » 18-й » » 22 » » 20-й » » 7 » » 21-й » » 3 »
Иммунизированные	120	1,5	На 8-й день у 46 животных » 9-й » » 35 » » 10-й » » 21 » » 11-й » » 18 »	На 11-й день у 6 животных » 12-й » » 42 » » 13-й » » 34 » » 14-й » » 26 » » 15-й » » 12 »
Контрольные	40	1,5	На 10-й день у 7 животных » 11-й » » 11 » » 12-й » » 21 » » 13-й » » 1 »	На 13-й день у 4 животных » 14-й » » 12 » » 15-й » » 23 » » 16-й » » 1 »

Через 20 дней в первой серии и через 30 дней в последующих двух сериях опытов после последней иммунизации аксолотлям вводился столбнячный токсин в количестве 1 или 1,5 м. с. д. Одновременно с этим столбнячный токсин в таком же количестве вводился контрольным (неиммунизированным) животным. Иммунизированные и контрольные аксолотли содержались в одинаковых условиях при температуре 20—22° и за ними велись одинаковые наблюдения.

Так как результаты наблюдений за аксолотлями в опытах первой серии совпадают с результатами наблюдений во второй и третьей сериях, то мы их сводим в одной табл. 1.

Как видно из табл. 1, иммунизация столбнячным анатоксином не создавала у наших аксолотлей состояния иммунитета, и после введения столбнячного токсина иммунизированные животные погибали так же, как и контрольные. Различие между иммунизированными и контрольными аксолотлями заключалось в том, что симптомы заболевания столбняком появлялись у иммунизированных на 2—3 дня ранее, чем у контрольных, а гибель животных от столбняка наступала у иммунизированных аксолотлей на 3—4 дня ранее, чем у контрольных.

Таким образом, нами установлено, что введение аксолотлям столбнячного анатоксина не только не создает у них иммунитета к столбнячному токсину, но создает у них повышенную чувствительность к нему, что позволяет думать о наступлении у них состояния сенсibilизации.

Поступило
29 XI 1949

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ Р. И. Белкин и К. А. Фриде, ДАН, 30, № 6 (1941). ² Р. И. Белкин, ДАН, 31, № 6 (1941).